

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
— Fachrichtung Fleischhygiene —
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Die Leptospirose als Zoonose
aus fleischhygienischer Sicht
sowie eigene Untersuchungen
über die Überlebensfähigkeit von *Leptospira Pomona*
in Muskulatur, Nieren und Lymphknoten
bei Gefrierlagerung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Detlef Sasse
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1976
Journal Nr. 885



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546604_0043

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
Fleischhygiene und -technologie
— Fachrichtung Fleischhygiene —
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Die Leptospirose als Zoonose
aus fleischhygienischer Sicht
sowie eigene Untersuchungen
über die Überlebensfähigkeit von *Leptospira Pomona*
in Muskulatur, Nieren und Lymphknoten
bei Gefrierlagerung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Detlef Sasse
Tierarzt aus Berlin

Berlin 1976

Journal Nr. 885

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender des FBR: Prof. Dr. H.-H. Frey
Referent : Prof. Dr. G. Reuter
Korreferent : Prof. Dr. H. Hartwigk



Tag der Promotion: 20. September 1976

Inhaltsverzeichnis

A. <u>Einleitung</u>	1
B. <u>Literatur</u>	2
I. Morphologie der Leptospiren	2
II. Tenazität der Leptospiren	3
II. 1. Das Überleben in tierischen Geweben und im Urin	3
II. 2. Der Einfluß des pH-Wertes auf die Überlebens- fähigkeit von Leptospiren	7
II. 3. Die Tenazität der Leptospiren gegenüber tiefen Temperaturen	9
a. Überleben in eingefrorenen Kulturen	9
b. Überleben in Aqua dest.	10
c. Überleben bei Zusatz verschiedener pro- tektiver Substanzen	10
d. Überleben in tierischen Geweben	12
II. 4. Die Tenazität der Leptospiren gegenüber hohen Temperaturen	16
III. Züchtungsmethoden	18
III. 1. flüssige Medien	18
III. 2. zweischichtige Medien	20
III. 3. halbfeste Medien	21
III. 4. feste Medien	21
IV. Systematik und Nomenklatur der Leptospiren und die durch Leptospiren hervorgerufenen Krankheiten beim Menschen	23
V. Einige Methoden des direkten und indirekten Nach- weises von Leptospiren und Leptospireninfektionen	25
V. 1. Der kulturelle Nachweis durch Anzüchtung	25
V. 2. Hemmstoffe und andere Verfahren zur Vermin- derung der Kontaminationsflora	27
V. 3. Der Nachweis von Leptospiren durch den Tierversuch	28
V. 4. Der serologische Nachweis	29

VI. Verbreitung der Leptospireninfektionen bei Schweinen, Rindern, Schafen und Ziegen in der Bundesrepublik Deutschland und den europäischen Nachbarländern	31
VII. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde bei Leptospirosen im Rahmen der Schlacht tier- und Fleischuntersuchung	36
VII. 1. Allgemeines zur Klinik der Leptospirosen	36
VII. 2. Klinik der Leptospirosen des Schweines	36
VII. 3. Klinik der Leptospirosen des Rindes	37
VII. 4. Pathologische Anatomie der Leptospirosen	38
VIII. Kasuistik der Leptospireninfektionen bei Schlächtern und Schlachthofangestellten	40
IX. Infektionswege bei Menschen und Tieren	51
IX. 1. Die orale Infektion	51
IX. 2. Die percutane Infektion	55
IX. 3. Die transplacentare Infektion	59
IX. 4. Die coitale Infektion	
IX. 5. Die Übertragung durch blutsaugende Insekten	60
X. Möglichkeiten zur Herabsetzung der Infektionsgefahr durch seuchen- und fleischhygienische Maßnahmen	61
C. <u>Eigene Untersuchungen</u>	64
I. Material	64
II. Methodik	67
III. Ergebnisse	74
1. Methodische Erkenntnisse	74
2. Ergebnisse der Tierversuche	76
3. Ergebnisse der Muskulaturversuche	81
4. Ergebnisse der Lymphknotenversuche	96
D. <u>Diskussion der Ergebnisse</u>	97
E. <u>Schlußfolgerungen</u>	109
F. <u>Zusammenfassung</u>	111
G. <u>Literaturverzeichnis</u>	115

A. Einleitung

Im Juli 1961 wurde die Meldepflicht für Leptospirosen in das Bundesseuchengesetz im Falle einer Erkrankung oder eines Todes übernommen. Im Tierseuchenrecht ist die Leptospirose in Form der Verordnung über meldepflichtige Tierkrankheiten vom April 1970 verankert.

Sowohl im humanmedizinischen als auch im veterinärmedizinischen Bereich begegnet man bei vorliegenden Leptospirosen einer extrem großen Symptomen-Varianz, was neben einigen anderen Faktoren die Diagnose erschwert. Wegen des Auftretens einer nicht unerheblichen Dunkelziffer bei Leptospiroseerkrankungen sowohl beim Menschen als auch beim Tier ist es schwierig, die Gefährdung der Bevölkerung durch Leptospiren zu beurteilen.

Meine Aufgabe im Rahmen der vorliegenden Dissertation war es, die Gefährdung des Menschen und hier insbesondere des Schlachthofpersonals und des Fleischkonsumenten durch tierische Ausscheider an Hand von Literaturangaben zu prüfen und weiterhin die Lebensdauer von Leptospiren in Muskulatur, Nieren und Lymphknoten bei Gefrierlagerung zu untersuchen. Aus den Untersuchungsergebnissen sollte eruiert werden, ob der Gefrierprozeß die Überlebensfähigkeit und somit das Gesundheitsrisiko des Verbrauchers mindert.

Wegen des großen Arbeitsaufwandes und der entstehenden Materialkosten wurde die Untersuchung auf einen Stamm beschränkt. Es wurde L. p o m o n a gewählt, da diese Serogruppe die größte Verbreitung unter den Haustieren in der Welt erlangt hat.

B. Literatur

B. I. Morphologie der Leptospiren

Leptospiren sind fadenförmige Gebilde, deren Länge 2-30 μ m betragen kann und deren Durchmesser 0,1 μ m erreicht. An beiden Enden besitzen sie eine charakteristische Krümmung. Der geringe Durchmesser gestattet es nicht, Leptospiren im Lichtmikroskop zu betrachten, da das Auflösungsvermögen hier nur bis zu 0,2 μ m reicht. Die Methode der Wahl bei Untersuchungen auf Leptospiren ohne Färbemethoden anzuwenden besteht in der Betrachtung im Dunkelfeld.

Elektronenmikroskopisch konnte festgestellt werden, daß Leptospiren aus einem Plasmazyylinder bestehen, der von einer zarten Membran umgeben ist und sich um eine zentrale Faser, den Achsenfaden, in Windungen herumlegt. Leptospiren besitzen keinen Zellkern, die genetische Information scheint in den einzelnen Nucleinsäuregranula zu liegen, die nur mit spezifischen Färbemethoden nachzuweisen sind.

Die Vermehrung erfolgt durch Querteilung.

Mit zunehmendem Alter der Kulturen kommt es zur Granulierung der Erreger, wobei sie ein perlschnurartiges Aussehen bekommen. Die Mehrzahl der Autoren sieht diese Formen als Degenerationerscheinungen an, die bei unphysiologischen Umweltbedingungen auftreten.

B. II. Tenazität der Leptospiren

B. II. 1. Das Überleben in tierischen Geweben und im Urin

BUCHANAN teilte 1927 mit, daß eine infizierte Meerschweinchenleber, die im Kühlschrank gelagert wurde, 26 Tage infektiös bleiben konnte. BERNKOFF et al. (1948) konnten mit Organsuspensionen von Nieren und Leber eines Kalbes, das an Leptospirose gestorben war, noch nach 28 Stunden Aufenthalt im Kühlschrank bei anderen Kälbern durch subcutane Injektion der Suspension eine Leptospirose hervorrufen. LÖLIGER (1950) infizierte Hamster mit *L. c a n i c o l a* und beobachtete das Überleben des Erregers in den Organen unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18°C überlebten die Erreger in Leber und Nieren bis 48 Stunden. Nach 72 Stunden waren sie nicht mehr nachweisbar. Nur 24 Stunden waren noch einige schwachbewegliche Leptospiren in Leber und Nieren zu erkennen, wenn die Organe bei 28°C aufbewahrt worden waren. Wurden die Tierkörper bei -10°C eingefroren, konnten nach 120 Stunden noch zahlreiche, aber schwach bewegliche Leptospiren nachgewiesen werden, die aber bei einer 24 stündigen Lagerung bei 18°C nach dem Auftauen verschwunden waren. ZISS (1951) konnte feststellen, daß Leptospiren im Verlaufe der Fleischreifung abstarben, wenn der pH-Wert des Fleisches auf wenigstens 6,0 abfiel. O'CONNELL u. BROOM berichteten 1952 über die erfolgreiche Isolierung von *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* aus einer Rattenniere. Die Ratte lagerte 3 Tage lang im Kühlschrank bei 5°C. KOTOWA (1955) fand in der Muskulatur künstlich infizierter Kaninchen noch 24 Stunden nach der Tötung virulente Keime. Nach 48 Stunden fanden sich nur noch bei 30% der Tierkörper Leptospiren. Der pH-Wert zu diesem Zeitpunkt betrug 6,2. MITROFANOVA-PERFILJEVA (1957) konnte nach einer 2 stündigen Kühlung von künstlich infiziertem Rohfleisch keine Lepto-

spiren mehr feststellen. MICHNA (1959) beobachtete für *L. c a n i c o l a* eine Überlebensdauer von 12 Tagen in natürlich infizierten Schweinenieren bei einer Lagerungstemperatur von 0 - 4°C. Weiterhin berichtete der Autor über das Überleben von *L. c a n i c o l a* in natürlich infizierten Hundenieren. Bei einer Aufbewahrungstemperatur von 0 - 4°C konnten bewegliche Erreger 7 Tage lang beobachtet werden. Noch 9 Tage nach dem Tode, also 2 Tage länger, konnte der Erreger angezüchtet werden. Bei künstlich, durch Injektion von Leptospirenbouillon, infizierten Schweinenieren konnte für *L. c a n i c o l a* eine Überlebensrate von 21 Tagen bei 0 - 4°C festgestellt werden. Weiterhin teilte MICHNA (1959) mit, daß *L. c a n i c o l a* in unverdünntem Hundeurin noch 7 Tage nach der Gewinnung nachgewiesen werden konnte. WESSELINOFF et al. (1962) führten umfangreiche Untersuchungen über das Überleben von Leptospiren in tierischen Geweben durch. Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen wurden intracardial oder intravenös mit Leptospirenkulturen infiziert und 2 - 3 Minuten danach getötet. Außerdem wurden Nieren von 20 erwachsenen Schweinen mit Leptospirenkulturen beimpft. Die Lagerung der Muskulatur und der Organe erfolgte im Kühlschrank bei einer Temperatur von 3 - 5°C. Es wurden die Serogruppen *i c t e r o h a e m o r r h a g i a e*, *p o m o n a* und zum Teil *b a t a v i a e*, *t a r a s s o v i* und *a u t u m n a l i s* verwendet. Es ergaben sich bei den Untersuchungen folgende Überlebenszeiten in Tagen:

	Muskel		Niere		Leber		Milz		Herzblut	
	pom	ict	pom	ict	pom	ict	pom	ict	pom	ict
Meerschw.	6	11	6	8	6	7	<1	7	3	<1
Ratte	3	7	<1	7	7	<1	<1	6	5	7
Kaninchen	10		13		12		8		13	

pom = *L. p o m o n a*

ict = *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e*

In künstlich infizierten Schweinenieren waren bis zu 3 Tage

lebende Leptospiren nachweisbar. Die Autoren teilten mit, daß die zum Teil unterschiedlichen Überlebensraten durch Kontamination der Proben mit Fremdkeimen zu erklären sind. MICHNA (1962) stellte fest, daß *L. canicola* in unverdünntem Schweineurin mit einem pH-Wert von 6,0-6,4 bis zu 6 Tage überlebte. MÜNKER (1963) berichtete, daß die Überlebensfähigkeit der Leptospiren im Fleisch und Organen vom Verlauf des Reifungsprozesses und damit dem pH-Wert, von der Aufbewahrungstemperatur und dem Gesamtkeimgehalt abhängig war. Bei normalem Verlauf des Reifungsprozesses waren die Leptospiren nach 12 - 24 Stunden nicht mehr lebens- und infektiösfähig. ZWIERZCHOWSKI (1963) konnte nach 48 Stunden post mortem nur noch bei der Hälfte der infizierten Meerschweinchen- und Hamsternieren und -lebern infektiöse Erreger feststellen. Nach 72 Stunden erwies sich keines der untersuchten Organe mehr als infektiös. Der Autor wies auf die Möglichkeit des Nachweises von Leptospiren in Hirngewebe hin, da die Erreger hier länger überlebten. MISHRA (1964) stellte Organsuspensionen von Lebern, Nieren und Milzen her. Sie wiesen einen pH-Wert von 6,5-7,7 auf, wurden mit *L. pomona* - Kulturen beimpft und bei 30°C aufbewahrt. In Lebersuspensionen überlebten die Erreger 3-6 Tage, in den anderen beiden 3-5 Tage. Es wurde beobachtet, daß die Erreger ihre Motilität früher verloren als ihre Fähigkeit sich zu vermehren, wie dies auch MICHNA (1959) berichtete. WEISE (1969) konnte in künstlich infizierten Schweine- und Rindernieren für *L. icterohaemorrhagiae* eine Überlebensdauer von maximal 28 Tagen bei einer Lagerungstemperatur von 0 - 4°C feststellen. Der Nachweis erfolgte durch Anzüchtung in Korthofmedium. OBIGER u. SCHÖNBERG (1972) fanden bei künstlich infiziertem Fleisch nach 78-stündiger Lagerung im Kühlschrank noch lebensfähige Leptospiren. In Hackfleisch mit einem pH-Wert von 5,5 waren die Erreger nur 7 Stunden nachweisbar.

Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die hier genannten Arbeiten.

Tabelle 1 Überlebensfähigkeit von Leptospiiren in tierischem Gewebe bei Kühl- und Raumtemperaturen

	Author	Jahr	Lag. temp (°C)	Tierart Nagetiere/gr.Hstiere	Erreger	Inf.-Art künstl/natürl	Überleben (Tage)
Leber	Buchanan, G.	1927	Ks	Ms	?	x	26
	Bernkopf, H.e.a.	1948	Ks		?	x	1, 2
	Löfliger, H.C.	1950	18	Hs	L. can.	x	2
	ders.	1950	28	Hs	L. can.	x	1
	Wesselinoff e.a.	1962	3-5	Ms, Rt, Kn	L. pom.	x	6, 7, 12
	dies.	1962	3-5	Ms, Rt	L. ict.	x	7, 1
	Zwierzchowski, J	1963	?	Ms, Hs	?	x	2
	Haupt, H.	1964	4-6	Ms	?	x	26
	Mishra, A.	1964	30		L. pom.	Inokulation	3-6
Milch	Bernkopf, H.e.a.	1948	Ks		?	x	1, 3
	Löfliger, H.C.	1950	18	Hs	L. can.	x	2
	ders.	1950	28	Hs	L. can.	x	1
	O'Connell, P.J.	1952	5	Rt	L. ict.	x	mind. 3
	Michna, S.W.	1959	0-4		L. can.	x	12, 9
	ders.	1959	0-4		L. can.	Inokulation	21
	Wesselinoff e.a.	1962	3-5	Ms, Rt, Kn	L. can.	x	6, 1, 10
	ders.	1962	3-5	Ms, Rt	L. pom.	x	11, 7
	Zwierzchowski, J	1963	?	Ms, Hs	L. ict.	x	2
	Mishra, A.	1964	30		L. pom.	Inokulation	3-5
Inskul.	Weise, E.	1970	0-4		L. ict.	Inokulation	28
	Kotowa, O.M.	1955	?	Kn	?	x	2
	Mitrofanova-Ter	1957	?		?	Inokulation	0, 1
	Wesselinoff e.a.	1962	3-5	Ms, Rt, Kn	L. pom.	x	6, 3, 10
	Münker, W.	1963	?	?	?	?	1-2
	Obiger, G.et al.	1972	Ks		?	Inokulation	0, 3

Ms=Meerschweinchen, Hs=Hamster, Rt=Ratte, Kn=Kaninchen, Klb=Kalb, Rd=Rind, Sw=Schwein, Hd=Hund
L. pom.=L.pomona, L. ict=L.icterohaemorrhagiae, L. can=L.canicola
Inokulation=Eimpfung in totes Gewebe, Ks=Kühlschranktemperatur

B. II. 2. Der Einfluß des pH-Wertes auf die Überlebensfähigkeit der Leptospiren

Die Empfindlichkeit der Leptospiren gegen Säuren, ganz allgemein gegenüber pH-Wert Schwankungen, ist eine charakteristische Eigenschaft dieser Erreger.

HAENDEL et al. (1919) fanden, daß n/10 HCl und 1%ige Milchsäure schnell tödlich wirkten. SARDJITO u. ZUELZER (1929) konnten in Sumatra im schwach alkalischen Wasser Leptospiren nachweisen, an der Westküste von Java, wo ein saurer pH-Wert des Wassers vorherrscht, dagegen nicht. DAVIDSON u. SMITH (1934) konnten nachweisen, daß Leptospiren höchstens 2 Stunden im Urin mit einem pH-Wert unter 5,5 überleben konnten. Bis zu 8 Stunden überlebten sie im Urin bei einem pH-Wert von 5,5-7,2. CHANG et al. (1948) zeigten, daß *L. icterohaemorrhagiae* in sterilem Leitungswasser bei einem pH-Wert von 5,0-5,2 28-30 Stunden überlebte. Bei einem pH-Wert von 8,3-8,5 betrug die Überlebensdauer der Erreger 3-4 Tage. LÖLIGER (1950) prüfte die Resistenz von *L.icola* in Phosphatpufferlösungen bei verschiedenen pH-Werten. Bei einem pH-Wert von weniger als 5,4 kam es sofort zu einer deutlichen Abnahme lebensfähiger Leptospiren, Aufhören der rotierenden Bewegung, deutliche Granulierung der Erreger und schließlich Zerfall in kleine Körnchen. Bei einem pH-Wert von 5,4 kam es zu einer völligen Bewegungslosigkeit der Erreger nach 2 Stunden, nach 24 Stunden waren sie nicht mehr nachweisbar. Bei einem pH-Wert von 5,8 waren vereinzelt bis zu 18 Stunden schwach bewegliche Leptospiren zu sehen, die erst nach 2-3 Tagen völlig verschwunden waren. FRUNDER (1952) prüfte die Leptospirenentwicklung bei verschiedenen pH-Werten im Korthofmedium mit einem 8%igen Kaninchen-serumzusatz. Sie stellte fest, daß es schon bei einem pH-Wert von 6,9 zu einer deutlichen Wachstumsregression kam. Bei einem pH-Wert von 6,4 wurde eine extreme Hemmung der Entwicklung beobachtet, die Absterbezeit war deutlich

beschleunigt. KOTOWA (1955) gab an, daß Leptospiren im Fleisch nach 12 tägiger Lagerung abgestorben waren, wenn der pH-Wert nicht über 6,2 stieg. OKAZAKI u. RINGEN (1957) konnten feststellen, daß ein pH-Wert unter 6,0 und über 8,4 Leptospiren in Aqua bidest rasch abtötete. Bei einer Temperatur von 20 - 26°C konnten die Erreger bei einem pH-Wert von 6,0 6 Stunden überleben, bei einem pH-Wert von 7,2 überlebten sie 17,2 Tage und bei einem pH-Wert von 8,4 behielten sie 7 Tage lang ihre Vermehrungsfähigkeit. Bei niedrigen pH-Werten war die Überlebensfähigkeit in tieferen Temperaturbereichen (7 - 10°C) besser, im alkalischen Bereich in höheren. Nach MICHNA (1959) beträgt der kritische pH-Wert für das Überleben von Leptospiren 6,0. Bei tieferen pH-Werten verloren die Erreger bei seinen Untersuchungen ihre Beweglichkeit, klumpten zusammen und verschwanden innerhalb von 24 - 48 Stunden. SMITH u. TURNER (1961) prüften die Überlebensfähigkeit verschiedener Serogruppen in Pufferlösungen und konnten feststellen, daß Leptospiren besser im alkalischen als im entsprechenden sauren Bereich überleben konnten. *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* überlebte bis zu 10 Tage bei einem pH-Wert unter 7,0. In Bereichen über pH 7,0 stieg die Überlebensfähigkeit bis zu 3 Monaten an. *L. t a r a s s o v i* überlebte zwischen 10-30 Tage bei einem pH-Wert zwischen 5,8 - 6,8 und 30 - 80 Tage bei einem höheren pH-Wert. Bei *L. a u s t r a l i s* konnte die längste Überlebenszeit festgestellt werden, wobei der pH-Wert keinen bedeutenden Einfluß hatte. Es wurde eine Überlebenszeit von ca. 100 Tagen registriert. MÜNKER (1963) fand, daß Leptospiren unter einem pH-Wert von 6,0 und über 8,4 geschädigt wurden. NUIKIN (1970) berichtete, daß das Auftreten von Leptospirosen unter Weidetieren abhängig vom pH-Wert des Bodens war. Je größer der Anteil der sauren Böden innerhalb der einzelnen Betriebe war, um so weniger Leptospirosefälle bei Weidetieren waren zu verzeichnen.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß Leptospiren sehr empfindlich schon gegenüber schwach saure pH-Bereiche reagieren. Offenbar bestehen aber Unterschiede zwischen den einzelnen Serogruppen (SMITH u. TURNER, 1961). Der optimale pH-Wert liegt für die Erreger im engen Bereich zwischen 7,2 und 7,5. Im alkalischen Milieu können höhere Überlebensraten erwartet werden, als im vergleichbaren sauren Bereich.

Die Tenazität der Leptospiren gegenüber tiefen Temperaturen

Die Meinungen und Untersuchungsergebnisse der einzelnen Autoren über die Widerstandsfähigkeit der Leptospiren gegenüber tiefen Temperaturen sind sehr unterschiedlich.

a. Überleben in eingefrorenen Kulturen:

Schon 1919 haben HAENDEL et al. festgestellt, daß die „Spirochaete der Weil'schen Krankheit“ im Gegensatz zu einer hohen Empfindlichkeit gegen hohe Temperaturen eine bemerkenswerte Resistenz selbst bei mehrtägigem Aufenthalt im „Frigo“ zeigt. Es wurden Erreger in Kulturröhrchen mit Kaninchenserum eingefroren. Unmittelbar nach dem Auftauen waren sie unbeweglich und ließen zum Teil Zerfallerscheinungen erkennen. Nach einer gewissen Bebrütungszeit zeigte sich dann wieder Beweglichkeit. Die Erhaltung der Virulenz wurde an Meerschweinchen geprüft. Nach 1-2 Tagen Aufenthalt im „Frigo“ vermochten die Erreger noch Meerschweinchen zu töten. Eine Virulenzabnahme war aber insofern zu verzeichnen, als die Krankheitsdauer bis zum Tode verlängert war. Nach 4 Tagen im „Frigo“ vermochten sie die Meerschweinchen zwar noch zu infizieren, nicht aber mehr zu töten. UHLENHUTH u. FROMME (1916) berichteten, daß die Abkühlung von Kulturen auf -10 bis -18°C das Überleben der „Spirochaeten“ nicht beeinflusste. MONLUX (1948) fror jeweils 3ml Leptospirenkultur in Kulturröhrchen ein und stellte fest, daß die Überlebensrate abhängig vom jeweiligen Stamm und von der Dichte der

Kultur war. Je dichter die Kultur gewachsen war, um so länger war die Überlebensdauer. Die einzelnen Serogruppen überlebten den Gefrierprozeß 40 Minuten bis 24 Stunden. Die Kulturen benötigten 15 Minuten um zu gefrieren. Beim Einfrieren in Trockeneis lag die Überlebensdauer zwischen 20 Minuten und 24 Stunden. LÖLIGER (1950) setzte Korthofkulturen von *L. canicola* mit 10%igem Hammelserumzusatz unterschiedlich lange Zeiträume einer Temperatur von -10°C aus. Er berichtete, daß es bei einem vollständigen Einfrieren der Kulturen zu einem Zerfall der Erreger in der darauffolgenden Zeit kam. Bei seinen Versuchen war die maximale Überlebensdauer auf 24 Stunden beschränkt. Bis zu dieser Zeit konnte er noch einige lebende Leptospiren nach dem Auftauen nachweisen.

b. Überleben in gefrorenem Aqua dest.:

OKAZAKI u. RINGEN (1957) froren *L. pomona* in Aqua bidest. ein. Es stellte sich heraus, daß *L. pomona* nur 1-2 Stunden bei -20°C überlebte. Die Autoren beobachteten, daß die Motilität der Organismen länger erhalten blieb, als die Fähigkeit sich in der Subkultur zu vermehren. Bei $20 - 26^{\circ}\text{C}$ und einem pH-Wert von 7,2 überlebten die Erreger 22 Tage in Aqua bidest und konnten sich 17,2 Tage lang vermehrungsfähig erhalten. Die Verfasser wiesen weiterhin auf den fehlenden Einfluß des pH-Wertes bei ihren Versuchen hin, da beim Einfrieren in destilliertem Wasser der Gefriertod so schnell eintreten soll, daß niedrige pH-Werte keinen schädigenden Einfluß ausüben konnten.

c. Überleben bei Zusatz verschiedener „protektiver“ Substanzen:

Es ist seit langem bekannt, daß verschiedene Zusätze zum Einfriermedium protektive Effekte ausüben können. Die bekannteste Schutzsubstanz ist neben verschiedenen Zuckern, Fett- und Eiweißverbindungen das Glycerin.

LINSCOTT u. BOAK (1960) prüften die Überlebensrate beim Einfrieren von 20 verschiedenen Serogruppen bzw. -typen. Es stellte sich heraus, daß beim Einfrieren ohne Glycerinzusatz bei einer Temperatur von -25°C über eine Dauer von 2 Tagen im Durchschnitt nur noch 1,38% der eingefrorenen Leptospiren eine Motilität aufwiesen. Bei einem Zusatz von 2,5% Glycerin waren 12, 53% der Leptospiren noch beweglich. Die Untersuchungen wurden unmittelbar nach dem Auftauen durchgeführt. Höhere Glycerinzusätze als 2,5% erwiesen sich für Leptospiren toxisch. SHIGEKAWA u.

STOCKTON (1955) untersuchten das Überleben von L.

i c t e r o h a e m o r r h a g i a e - Kulturen, die im Korthofmedium gezüchtet und dann zentrifugiert wurden, in verschiedenen Medien und bei verschiedenen Temperaturen. Die Erreger überlebten wenigstens 8 Monate in Magermilch oder Pferdeserum bei einer Lagertemperatur von -79°C .

In einer 1%igen Stärkelösung, 3%igen Gelatinelösung, 2%iger Caseinlösung und in Magermilch ließen sich die Keime nach einer 9 -12 monatigen Lagerung bei -27°C nachweisen. In 3%iger Gelatinelösung, 1 und 2%iger Caseinlösung, in Magermilch und normalem Pferdeserum konnten nach einer Lagerungstemperatur von -47°C nach einem Jahr noch lebensfähige Erreger nachgewiesen werden. Magermilch vermochte demnach bei allen Lagerungstemperaturen L.

i c t e r o h a e m o r r h a g i a e am stärksten zu schützen. Die Tabelle 2 faßt noch einmal die Untersuchungsergebnisse von SHIGEKAWA u. STOCKTON (1955) zusammen.

COGHLAN et al. (1967) froren 27 Leptospirenstämme in einem modifizierten Stuartmedium, dem 7,5% Glycerin hinzugefügt war, in Kapillarröhrchen bei -79°C ein. Die Proben wurden nach 4-30 Monaten wieder aufgetaut. Jeder Serotyp wurde nach dem Auftauen wieder reisoliert, nicht alle aber überlebten die gleiche Zeitspanne. Insgesamt wurden 129 Versuche unternommen, Leptospiren nach Gefrierlagerung zu reisolieren, wovon 88 (68%) erfolgreich verliefen. 8 von 20 Kulturen, die 30 Monate eingefroren waren, konnten

nach dem Auftauen weitergezüchtet werden. Die Autoren berichteten, daß oft bewegliche Leptospiren nach dem Auftauen im Dunkelfeld zu sehen waren und daß es auch in einigen Fällen zu einer Vermehrung bis zu einem gewissen Grade gekommen war, bis es zu einem endgültigen Absterben der Kultur kam. COGHLAN et al. waren der Ansicht, daß das Alter der Kultur vor dem Einfrieren den Erfolg der Reisolierung der Erreger zu beeinflussen schien. Sie schlugen den Zusatz von wachstumsfördernden Substanzen zur Reisolierung von Leptospiren vor. STALHEIM (1971) testete verschiedene protektive Substanzen für das Einfrieren von *L. pomona* in einem synthetischen Medium. Er fand die Zugabe von 10% Glycerin am wirksamsten, um die Erreger vor dem Gefriertod zu bewahren. Beim Einfrieren in flüssigem Stickstoff und anschließender Lagerung bei -197°C ging die Konzentration der Kultur von 10^8 auf $10^6/\text{ml}$ zurück. Die Lagerungsdauer betrug 180 Tage. ALEXANDER et al. (1972) konnten bei *L. canicola* Lebensfähigkeit und Virulenz durch Lagerung in flüssigem Stickstoff erhalten. Es wurde Kulturen im Stuartmedium 10% Glycerin zugegeben und schnell ($-65^{\circ}\text{C}/\text{min.}$) auf -130°C heruntergeköhlt. SCHUBERT und SULZER (1973) fanden Rinderserum-Albumin als protektive Substanz zum Einfrieren von Leptospirenkulturen am besten geeignet.

JONES (1958) und RODINA (1970 u. 1971) konnten zum Teil noch nach 3 Jahren Gefrierlagerung bei -196°C lebende Leptospiren aus künstlich infizierten Samenportionen isolieren.

d. Überleben in tierischen Geweben bei Gefrierlagerung:

STAVITSKY (1945) konnte aus Meerschweinchenlebern, die bei -20°C 100 Tage gelagert wurden, pathogene und lebensfähige Leptospiren der Serogruppe *icterohaemorrhagiae* nachweisen. LÖLIGER (1950) wies in einem Hamster, der künstlich infiziert und gleich nach dem Tode bei -10°C eingefroren wurde, nach 100 Tagen noch schwach

bewegliche und zum Teil zuckende *L. canicola* nach. KOTOWA (1955) infizierte 11 Ziesel (*Citellus citellus*) mit *Leptospiren*kulturen subcutan und konnte die Erreger bei diesen Tieren, die er in Intervallen bis zu 7 Tage nach der Injektion tötete, nachweisen. Bis zu 24 Stunden nach der Tötung war das unbehandelte Fleisch dieser Tiere für andere Ziesel infektiös, was durch Fütterungsversuche nachgewiesen werden konnte. Nach einer 10 tägigen Lagerung der infizierten Tierkörper bei -10 bis -20°C konnten keine Ziesel mehr mit diesem Fleisch oral infiziert werden. ZURECK (1960) gibt die Lebensdauer von *Leptospiren* im Gefrierfleisch mit 15 Tagen, MÜNKER (1963) mit 10-15 Tagen an. Beide Autoren machen keine Angaben über ihre Versuchsbedingungen. ILLARTEIN (1968) fror Lebern künstlich infizierter Meerschweinchen bei einer Temperatur von -20°C ein und lagerte sie bei dieser Temperatur. Es gelang ihm mit Homogenisaten aus Lebern dieser Tiere nach 48 Stunden weitere Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion zu infizieren. Diese Tiere zeigten weder Icterus noch Haemorrhagien. Nach 4 tägiger Gefrierlagerung waren durch den Tierversuch keine *Leptospiren* mehr nachweisbar. Der Autor zog daraus den Schluß, daß *L. icterohaemorrhagiae*, womit er seine Versuche anstellte, bei der Gefrierlagerung Virulenzverluste erlitt. WEISE (1970) konnte feststellen, daß Rinder- und Schweinenieren, die künstlich mit *L. icterohaemorrhagiae*-Kulturen inokuliert wurden, nach 3-tägiger Lagerung bei -18°C keine lebensfähigen Erreger mehr enthielten. Reiso-lierungsversuche wurden in Korthofmedium durch Überimpfung von Nierengewebsaufschwemmungen durchgeführt. KOUDELA (1971) berichtete, daß *Leptospiren* in gefrorenem Fleisch bis zu 15 Tage überlebten. OBIGER u. SCHÖNBERG stellten fest, daß *Leptospiren* in Hackfleisch nach Erreichen einer Kerntemperatur von -7°C nur 2 Stunden überlebten.

Die Tabelle 3 gibt einen Überblick über die hier besprochenen Literaturangaben.

Tabelle 2 Überlebensfähigkeit von *Leptospira icterohaemorrhagiae* suspendiert in verschiedenen Medien, gelagert bei -27°C, -47°C und -79°C *)

Suspensions - Medium													
Lager-zeit (Mon.)	Stärke (1%)	Gelatine (1%)	Gelatine (3%)	Agar (0,25%)	Kasein (1%)	Kasein (3%)	Mager- milch	Eigelb	Normales Pferde- serum	Frische Allant.- flüss.	Gefrorr. Allant.- flüss.		
	Lagerungstemperaturen in -°C												
	27	47	79	27	47	79	27	47	79	27	47	79	
O.E.	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	
a.n.E.	3+	4+	2+	1+	2+	3+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	
1	3+	-	3+	-	1+	1+	4+	3+	4+	3+	-	4+	
3	3+	3+	3+	3+	1+	3+	4+	4+	1+	-	3+	3+	
4	-	-	-	-	-	3+	4+	-	4+	-	-	-	
5	2+	4+	4+	-	-	3+	4+	-	-	-	-	-	
6	-	-	2+	-	2+	4+	4+	2+	4+	-	-	-	
8	-	-	-	-	-	-	4+	-	3+	-	-	-	
9	4+	-	2+	-	-	4+	-	-	-	-	-	-	
12	4+	-	4+	-	-	3+	4+	3+	4+	-	-	-	

Bebrütung bei 30°C für 2 Wochen

1+, 2+, 3+, 4+ = Geschätzte Wachstumsintensität
(entsprechend +, ++, +++, +++)

- = kein Wachstum

O.E. = ohne Einfrieren

a.n.E. = aufgetaut sofort nach dem Einfrieren
(*) nach Shigekawa, J.M. u. Stockton, J.J. (1955)

Tabelle 3

Überlebensfähigkeit von Leptospiren bei Gefriertemperaturen

	Autor	Jahr	Temp. (-°C)	Lager- dauer	Sero- gruppe	Medium	Absterbe- rate (%)
Künstliche Substrate	Haendel et al.	1918	?	4 d	ict.	Kaninchenserum	VA
	Uhlenhuth et al.	1916	10-18	?	?	Kulturen	0
	Monlux, W. S.	1948	?	2/3-24 h	diverse	Kulturen	100
	Monlux, W. S.	1948	79	1/3-24 h	diverse	Kulturen	100
	Löfliger, H. C.	1950	10	24 h	can.	Korthof + 10 % Kaninchenserum	100
	Okasaki, W. et al.	1957	20-26	22 d	pom.	Aqua bidest. (pH 7,2)	100
	Linacott, W. D. et al.	1960	25	2 d	diverse	Kulturen	98,6
	Linacott, W. D. et al.	1960	25	2 d	diverse	Kulturen + 2,5 % Glycerin	87,5
	Coglan, J. D. et al.	1967	79	920 d	20 div.	Stuart-M. + 7,5 % Glycerin	60
	Stalheim, O. H. V.	1971	197	180 d	pom.	10 % Glycerin	99
	Alexander, A. et al.	1972	196	?	can.	Stuart-M. + 10 % Glycerin	0
	Schubert, J. H. et al.	1973	75	640 d	diverse	Rinderserum-Albumin	0
Natürl. Substrate	Jones, R. K.	1958	190	30 d	pom.	Rindersperma, künstl. inf.	0
	Rodina, V. N.	1970	196	3 a	pom. + hebd.	Rindersperma, künstl. inf.	0
	Rodina, V. N.	1972	196	3 a	pom. + hebd.	Rindersperma, künstl. inf.	0
	Stavitsky, A. B.	1945	20	100 d	ict.	Meerschweinchen-Leber	0
	Löfliger, H. C.	1950	10	100 d	can.	Hamster	0
	Kotova, O. M.	1955	10-20	10 d	?	Ziesel	100
	Illartein, P. R.	1968	20	2 d	ict.	Meerschweinchen-Leber	VA
	Weise, E.	1970	18	3 d	ict.	Schweine- und Rindernieren	100
	Obiger, G. et al.	1972	7	2 h	?	Schabefleisch	100

h = Stunden
d = Tage
a = Jahre

ict. = L. icterohaemorrhagiae
can. = L. canicola

pom. = L. pomona
hebd. = L. hebdomadis

VA = Virulenz-
abnahme

B. II. 4. Die Tenazität der Leptospiren gegenüber hohen Temperaturen

Hitze tötet Leptospiren schnell ab. UHLENHUTH u. FROMME (1916) stellten fest, daß *L. icterohaemorrhagiae* im Blut, das bis 45°C erhitzt wurde, innerhalb von 15 Minuten abstarb. Bei 50°C waren die Erreger schneller vernichtet. ZIRONI u. CARLINFANTI (1941) fanden eine vollständige Lysis der Leptospiren nach 30-minütiger Erhitzung auf 55°C. Bei höheren Temperaturen (80°C) hingegen kam es zu einer Fixierung der Leptospiren, was die Erhaltung der Form über einen mehr oder minder langen Zeitraum gestattete. CHANG et al. (1948) berichteten, daß Leptospiren in sterilem Wasser bei 45°C innerhalb von 25-30 Minuten, bei 50°C innerhalb von 5-10 Minuten, bei 60°C innerhalb von 10 Sekunden und bei 70°C innerhalb von weniger als 10 Sekunden abgetötet werden. MÜNKER (1963) kam zu ähnlichen Ergebnissen. MAILLOUX (1968) fand bei der Untersuchung von 13 Serotypen verschiedener Serogruppen, daß die „saprophytären“ Leptospiren hitzeresistenter als die „pathogenen“ waren. Die Serogruppe *icterohaemorrhagiae* schien hitzeempfindlicher zu sein als andere Serogruppen. Der Nachweis des Überlebens wurde gleich nach dem Versuch durch Dunkelinfeldmikroskopie und Anzüchtung geführt. Die Tabelle 4, die dieser Arbeit entnommen wurde, veranschaulicht die Ergebnisse von MAILLOUX.

Tabelle 4 +)

Temp. °C		Dauer der Hitzeeinwirkung										
		1'	2'	5'	10'	20'	30'	1h	2h	3h	4h	6h
35		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	S	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	P	+	+	+	+	+	+	o	-	-	-	-
50	S	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	P	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
55	S	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	S	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P	o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

o = Einige Keime noch lebend, Subkultur positiv bei geringer Dichte

+

- = Keime abgetötet

S = „saprophytäre Leptospiren“

(L. semaranga)

P = pathogene Leptospiren

' = Minuten

h = Stunden

+) nach MAILLOUX, M. (1968)

B. III. Züchtungsmethoden

1. Flüssige Nährmedien

Die flüssigen Medien nahmen und nehmen noch heute die bedeutenste Stellung bei der Züchtung und Isolierung der Leptospiren ein. Vor der Entwicklung der heute gebräuchlichen Grundmedien nach VERVOORT (1923), KORTHOF (1932), STUART (1946), CHANG (1947) und ELLINGHAUSEN u. MC CULLOGH (1965) wurden Leptospiren unter anderem in Ascitesflüssigkeit (INADO u. ITO, 1915; HAENDEL et al., 1919), in unverdünntem Kaninchenserum (HAENDEL et al., 1919) und verschiedenen anderen Medien versucht anzuzüchten.

Die heute gebräuchlichen Basismedien enthalten als Substrate Pepton und Puffersubstanzen (Medien nach VERVOORT und KORTHOF). Das Medium nach STUART enthält zusätzlich Phenolrot, Asparagin und Glycerin, das Medium nach CHANG Leberextraktpulver.

Diesen Basismedien werden von den einzelnen Autoren unter anderem Serum, verschiedene Vitamine, Haemoglobin, Glaskörperfiltrate, Mycobakterienextrakte, Capsaicin und Allantoisflüssigkeit zugesetzt.

In den meisten an anderer Stelle dieser Arbeit zitierten Veröffentlichungen werden den Basismedien 10% Kaninchen- oder Hammelserum zugesetzt. Hammelserum wird vor allem in der DDR mit Erfolg angewendet. RYU (1969) verglich Seren verschiedener Tierarten in Bezug auf ihren wachstumsfördernden Effekt auf verschiedene Leptospiren. Er konnte feststellen, daß bei 13 untersuchten Serotypen Seren von Milchkühen und Ziegen das Wachstum am besten stimulierten. Es folgten Kaninchen-, Enten- und Hühnerseren. Seren von Schweinen, Pferden und Wasserbüffeln vermochten das Wachstum nicht positiv zu beeinflussen. OBIGER (1974) stellte fest, daß Kaninchenserum das Wachstum von Leptospiren am günstigsten beeinflusste. CHANG (1946) setzte seinem Medium 15% Pferdeserum hinzu. FRUNDER (1952) fand dagegen Pferdeserum als Zusatz zum

Basismedium ungeeignet, da es Trübungen verursachte, die die mikroskopische Untersuchung erschwerten.

Unter den einzelnen Autoren herrscht also keine einheitliche Meinung über das Serum, das Leptospiren optimale Wachstumsbedingungen schafft. Kaninchenserum hat sich jedoch als Zusatz zu Basismedien am stärksten durchgesetzt. Dieses wird in inaktiviertem (KORTHOFF, 1932; WIESMANN, 1949) oder in nicht inaktiviertem Zustand (HARTWIGK u. STOEGBE, 1962) zugesetzt. Der Anteil am Gesamtmedium bei alleiniger Zugabe schwankt zwischen 7 und 10%. OBIGER (1974) gab 3% Kaninchenserum zum Basismedium hinzu, das mit 1mg Vit. B₁₂ angereichert wurde. FUCHS (1959) fand, daß bei größeren Serumgaben (20%) die Überlebensdauer der Leptospiren im Medium verlängert werden kann, was z.B. bei der Stammhaltung von praktischem Wert ist.

Es besteht im allgemeinen die Auffassung, daß Haemoglobin als Zusatz zum Basismedium einen wachstumsfördernden Einfluß hat (WORATZ, 1952; ZAHARIJA, 1957). Nach FUCHS u. WALTER (1959) boten Haemoglobinnengen von 6,75 - 27mg/100ml Kulturflüssigkeit den getesteten Stämmen optimale Kulturbedingungen im Korthofmedium mit einem 20%igen Hammelserumzusatz. FAINE (1959) fügte einem modifizierten Korthofmedium 10% haemolytisches Kaninchenserum hinzu. CHANG (1946) und COX u. LARSON (1957) setzten 15ml/l einer Haemoglobinzubereitung ihren Medien zu. WORATZ (1952) setzte dem Basis-Medium nach KORTHOFF 8-10% nicht defibriniertes, haemolysiertes Kaninchenblut hinzu. LELUTIO u. SOTIRIU (1962) züchteten Leptospiren in Korthofmedium mit Zusatz eines 10%igen Schaferythrocytenextraktes.

BABUDIERI (1959) erkannte Vitamin B₁₂ als wichtigen Wachstumsfaktor für Leptospiren, dessen Zusatz es bei pathogenen Leptospiren erlaubte, die Serumkonzentration im Nährmedium herabzusetzen. Die meisten von ihm untersuchten Wasserleptospirenstämme („apathogene“ Arten) wuchsen bei

alleiniger Zugabe von Vitamin B₁₂. MIFUCHI et al. (1963) setzten ihrem Medium die Vitamine B₁, B₆, B₁₂ und Pantothen säure hinzu.

FUCHS (1959) setzte Rinderglaskörperfiltrat zum Korthofmedium hinzu und fand es als Hammelserumersatz bei 33%igem Zusatz ähnlich gut geeignet wie Hammelserum.

MIFUCHI et al. (1963) verwendeten Mycobacterium plei oder M. smegmatis Extrakt als Kaninchenserumersatz und konnten damit ähnlich gute Wachstumsergebnisse erzielen wie mit Kaninchenserum.

KUJUMGIEV (1962) konnte nachweisen, daß Capsaicin eine mutagene Wirkung auf Leptospiren ausübte. Nach Aufenthalt in Capsaicin enthaltenden Nährmedien und darauffolgender Überimpfung konnte bei den untersuchten Stämmen ein ausgiebigeres und rascheres Wachstum in Nährböden ohne diesen Stoff beobachtet werden. Diese erworbene Eigenschaft der Erreger war vererblich, unveränderlich und beständig.

BREDE u. LEMPFRIED (1951) setzten dem Korthofmedium 10% sterile Allantoisflüssigkeit von 13 Tage lang bebrüteten Hühnereiern hinzu. Sie erhielten ähnlich gute Ergebnisse wie beim Zusatz von Kaninchenserum.

2. Zweischichtige Nährmedien

MANEW (1969) schlug für die Leptospirenstammhaltung einen zweischichtigen Nährboden auf der Grundlage des Basismediums nach KORTHOF vor. Das Medium besteht aus einer festen Phase mit einem 1%igen Agar-Agar Zusatz zum Korthofmedium, das Kaninchenserum enthalten kann. Die flüssige Phase besteht aus Basismedium nach KORTHOF mit Zusatz von Vitamin B₁₂ und 6-10% Kaninchenserum. Die Bedeutung dieses Mediums liegt darin, daß die Austrocknung verlangsamt wird, toxische Substanzen absorbiert werden und die Leptospiren vor schädlichen osmotischen Einwirkungen geschützt werden. Die Überlebensdauer betrug bei 97% der untersuchten Stämme über 6 Monate ohne Überimpfungen vornehmen zu müssen.

TRIPATHY u. HANSON (1971) konnten mit der Agar-Overlay-Methode gute Ergebnisse erzielen. Die Basis dieses Mediums bildet das BAP-Medium nach ELLINGHAUSEN u. McCULLOGH (1965) dem 1% Agar-Agar als Boden und 0,7% Agar-Agar als Überschichtung zugesetzt wurden. Im Medium mit 0,7% Agar-Agar werden kurz vor dem Übergießen auf die festere Nährbodenkomponente Leptospiren zugegeben und darin verteilt. Die Autoren konnten bei den von ihnen untersuchten Stämmen bereits nach 3-7 Tagen ein Koloniewachstum feststellen.

3. Halbfeste Nährmedien

KANEKO konnte schon 1922 feststellen, daß bei 0,3%igem Agar-Agar Zusatz zu Ascitesflüssigkeit und reinem Kaninchenserum Leptospiren besonders gut wuchsen und auch die Haltbarkeit der Kultur bis zum Absterben ohne Überimpfung länger war. Die bekanntesten heute gebräuchlichen Nährmedien sind die Medien nach NOGOUCHI, 1924; FLETCHER, 1928 und CHANG, 1947. Daneben wurden fast alle flüssigen Medien auch im halbfesten Zustand verwendet. Die Agar-Agar Konzentration schwankt zwischen 0,15 - 0,65%.

Die halbfesten Nährböden finden besonders in der Leptospiren-Stammhaltung Verwendung, da die wöchentlichen bzw. 14-tägigen Überimpfungen fortfallen. Daneben werden sie aber auch häufig für die Isolierung aus infektiösem Material verwendet.

4. Feste Nährmedien

WORATZ (1952) konnte als erster Leptospirenkolonien auf seinem von ihm entwickelten und 1,5 - 2% Agar-Agar enthaltenen Nährboden beobachten. COX u. LARSON (1957) nahmen dies für sich in Anspruch und bestritten die Ergebnisse von WORATZ. Ihr Medium enthielt 1% Agar-Agar und ermöglichte das Wachstum aller von ihnen untersuchten Serogruppen. Es wurden 2 Kolonieformen festgestellt, die

allerdings nicht serogruppenspezifisch waren. L. biflexa benötigte 7-10 Tage um Kolonien in der Größenordnung von 1-4mm im Durchmesser zu bilden, die pathogenen Leptospiren dagegen 3-5 Tage mehr. Das Medium nach COX u. LARSON ist heute das bekannteste. ROTH et al. (1961) benutzten unter anderem dieses Medium um aus tierischem Material Leptospiren zu züchten. Die Dauer bis zum ersten beobachteten Wachstum betrug 6-17 Tage. Die Autoren schlugen vor, feste und halbfeste Nährmedien beim Versuch der Anzüchtung aus tierischem Material anzuwenden, da die Chance größer sei auf einem der beiden Nährböden Leptospiren heranzuzüchten, die Kontaminationsflora auf Agar-Agar Platten besser unter Kontrolle gehalten werden kann und Leptospira-Mischinfektionen mit 2 oder mehr Serogruppen evtl. besser erkannt werden können. FUJIKURA (1966) setzte das Medium nach COX u. LARSON zur Züchtung von Leptospiren in Kulturflaschen ein und konnte ebenfalls 2 Wuchstypen unterscheiden: diffuse große Kolonien und vereinzelte kleine.

B. IV. Systematik_und_Nomenklatur_der_Leptospiren
und_die_durch_Leptospiren_hervorgerufenen
klinischen_Erkrankungen_beim_Menschen

Der Genus *Leptospira* gehört in die Ordnung der Spirochaetales und in die Familie der Spirochaetaceae. Nach der Entscheidung des Subkomitees für Taxonomie der Leptospiren des Internationalen Komitees für systematische Bakteriologie im Juli 1966 in Moskau wurde eine neue Nomenklatur vorgeschlagen, wonach keine Unterscheidungen mehr zwischen Serotyp und Subserotyp gemacht und alle Subserotypen als Serotypen anerkannt werden. Die saprophytären und parasitären Leptospiren werden in eine einzige Spezies, *L. i n t e r r o g a n s*, eingruppiert. Innerhalb dieser Spezies bilden die saprophytären und parasitären Leptospiren 2 „Komplexe“. Aus praktischen Erwägungen heraus werden die Serotypen auf Grund ihrer serologischen Verwandtschaft in 16 Sero-
gruppen eingeordnet. Diese haben jedoch keinen Spezies-
charakter.

Die Bezeichnung für die einzelnen Leptospiren würde nach dem Vorschlag des Subkomitees für Taxonomie jetzt z.B. lauten: *L. i n t e r r o g a n s* Serotyp *c a n i c o l a*, *L. i n t e r r o g a n s* Serotyp *p o m o n a* usw. Diese Bezeichnungen haben sich jedoch in der Literatur bisher noch nicht durchsetzen können.

In der folgenden Tabelle 5 wird ein Überblick über die Sero-
gruppen, einzelne Serotypen und die von ihnen verursachten Krankheiten beim Menschen gegeben. Sie wurde unter Verwendung der Veröffentlichungen von GRUMBACH u. KIKUTH (1958), KATHE u. MOCHMANN (1967) und KÖHLER u. MOCHMANN (1975) und verschiedener anderer Autoren erstellt.

Tabelle 5

Nomenklatur der Leptospiren und die durch Leptospiren hervorgerufenen klinischen Erkrankungen beim Menschen

Serogruppe	Vork. in Europa	Klinische Erkrankung beim Menschen
icterohaemorrhagiae	+	Weil'sche Krankheit o. Leptospirosis icterohaemorrhagiae gravis o. Sumpffieber o. Wasserfieber (febris aquatilis)
pomona	+	Schweinehüterkrankheit o. Meningitis porcinarii o. Maladie des jeunes porchers
tarassovi	+	wie pomona
grippotyphosa	+	Feld-, Ernte-, Sumpf- o. Schlammfieber Erbsenpflückerkrankheit
canicola	+	Canicola-Leptospirose o. Canicola-Fieber
autumnalis	+	Japanisches Herbstfieber o. Hasamiyami o. Akiyami
St.: fort-bragg		Fort-Bragg-Fieber
hebdomadis	+	Japanisches Siebentagefieber o. Nanukayami o. Akiyami B
St.: sejroe		Feldfieber
St.: mini		anikterische Leptospirose
St.: saxcoebing		" "
javanica	+	benigne Leptospirose
St.: poi		Reisfeldfieber
bataviae	+	Indonesische Weil'sche Krankheit
australis	+	Rohrzuckerfieber
cynopteri	-	nicht bekannt
pyrogenes	-	kurzfr. Leptospirenfieber
celledoni	-	Rohrzuckerschneiderfieber
ballum	+	Leptospirosis ballum
panama	-	nicht bekannt
biflexa	+	saprophytäre Formen

St.: = Serotyp

B. V. Einige Methoden des direkten und indirekten Nachweises von Leptospiren und Leptospireninfektionen

B. V. 1. Der kulturelle Nachweis durch Anzüchtung

Als Untersuchungsmaterial bieten sich hierbei an: Nierengewebe, Harn und Blut.

Die Anzüchtung von Leptospiren aus Nierengewebe

Das Nierengewebe infizierter Tiere ist der bevorzugte Sitz der Leptospiren. Während SLEIGHT u. LUNDBERG (1961) bei ihren Versuchen in anderen Organen als der Niere nur eine Persistenz von wenigen Tagen feststellen konnten, war L. p o m o n a bis zum Ende der Versuche, am 45. Tag post infectionem, noch in den Nieren künstlich infizierter Schweine nachweisbar. MITCHELL et al. (1966) konnten beim Schwein eine 2 Jahre andauernde Leptospirurie nachweisen.

HARTWIGK u. STOEGBE (1962) zerkleinerten Nierenrindenstückchen von Kleinerbsengröße und inokulierten sie in 5ml Korthof-Nährlösung. YANAGAWA et al. (1963) und ALEXANDER et al. (1964) stellten dagegen fest, daß sich Gewebssuspensionen als Zugabe zum Nährmedium nicht zur Isolierung von Leptospiren eigneten, wenn diese nicht stark verdünnt waren. Dies wird nach Ansicht dieser Autoren durch lytische Prozesse des eingebrachten Materials bedingt, die eine Wachstumshemmung bei Leptospiren hervorrufen sollen. HORSCH(1965) konnte diese Annahme an Modellversuchen mit Ratten experimentell sichern. Er konnte wie WEISE (1969) keine Anzeichen dafür finden, daß spezifische Antikörper, die im infizierten Nierengewebe vorhanden sind, die Ursache der Wachstumshemmung darstellen, wie dies früher oft angenommen wurde. ALEXANDER et al. (1964) homogenisierten das Untersuchungsmaterial und stellten 10%ige Lösungen her, die sie dann auf die entsprechenden Nährmedien verimpften. MITCHELL et al. (1966) homogenisierten 10g Nierenmaterial in 10ml Korthof-Basismedium. Es wurde dann eine Verdünnungsreihe in Zehnerpotenzen hergestellt.

Aus jeder Verdünnungsstufe wurde dann eine bestimmte Anzahl von Proben entnommen und auf das Nährmedium nach FLETCHER überimpft. MICHNA et al. (1974) entnahmen aus veränderten Nierenrindenbezirken mit einer Pasteurpipette Gewebeteile und verbrachten sie in STUART-Nährmedien. Die angelegten Kulturen wurden wöchentlich überprüft und über eine Gesamtdauer von 2 Monaten bei 30°C bebrütet.

Die Anzüchtung von Leptospiren aus dem Harn

Mit Einsetzen des höchsten Titerwertes der Antikörper im Serum infizierter Schweine kam es bei den Untersuchungen von BURNSTEIN u. BAKER (1954) zur Leptospirurie. Nach neueren Erkenntnissen bestehen jedoch zwischen Höhe des Antikörpertiters und der Phase der Leptospirurie keine Zusammenhänge. Nach LYUBASHENKO et al. (1974) konnten nur bei 65% der Schweine, die Leptospiren im Harn ausschieden, Antikörper im Serum festgestellt werden. Die Titer der Tiere, die Leptospiren ausschieden, lagen bei 1:100 bis 1:400. Bei nur 43% der Rinder konnten Antikörper bei bestehender Leptospirurie festgestellt werden. SOLOSENKO u. SEMENOVA (1966) machten ähnliche Beobachtungen.

Eines der größten Probleme bei der Anzüchtung von Leptospiren aus dem Harn ist dessen sterile Gewinnung. Nach MENGES kann man bei kleinen Haustieren die Harnblasenpunktion durch die Bauchdecke zur sterilen Harngewinnung anwenden. STALHEIM (1967) empfahl den Harn von Schweinen beim natürlichen Harnabsatz in sterilen Gefäßen zu sammeln und eine Untersuchung im Dunkelfeld vorzunehmen. Fiel das Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung negativ aus, so wurde der Harn auf einen pH-Wert von 6,6-7,6 heruntergepuffert und jeweils 0,5ml auf 10ml Nährmedium nach FLETCHER oder STUART überimpft. Die Medien enthielten zur Hemmung der Sekundärkeimflora 200mg Fluorouracil pro Liter. MENGES (1958) gab 3 Tropfen Harn auf 5ml Nährmedium nach FLETCHER. HARTWIGK u. STOEBBE (1962) gaben 0,1ml Harn auf 5ml Korthofmedium.

Die Anzüchtung aus dem Blut

BURNSTEIN u. BAKER (1954) konnten bei künstlicher subcutaner und nasaler Infektion von Schweinen 3-12 Tage nach der gesetzten Infektion im Blut Leptospiren nachweisen. ZAHARIJA (1957) hielt den 5. Krankheitstag beim Menschen für die äußerste Grenze, um erfolgreich aus dem Blut Leptospiren zu züchten. Der Autor teilte mit, daß die Züchtung von Leptospiren nur gelang, wenn der Zeitraum zwischen Entnahme des Blutes und der Überimpfung nicht zu groß war, eine Kühlung des Blutes während des Transportes erfolgt war und das Gebot der Sterilität bei allen Manipulationen beachtet wurde.

B. V. 2. Hemmstoffe und andere Verfahren zur Verminderung der Kontaminationsflora

Das Problem, daß Sekundärkeime die Isolierung der Leptospiren aus tierischen Geweben und anderen Substraten erschweren und teilweise unmöglich machen können, hat bis heute keine befriedigende Lösung gefunden.

Im Laufe der Jahre haben sich folgende Methoden gefunden:

1.) Verwendung von Antibiotika und Hemmstoffen, 2.) Filtrierung, 3.) Verdünnungen, 4. Versuchstiere.

Hemmstoffe und Antibiotika

1964 fanden JOHNSON und PALMER, daß 5-Fluorouracil (ROCHE) einen starken keimhemmenden Effekt auf banale Schmutzkeime hatte, nicht jedoch auf die Vermehrung von Leptospiren Einfluß nahm. Dieser Selektivstoff wurde mit unterschiedlichem Erfolg von STALHEIM (1967), CAROLL u. LE CLAIR (1969), BISPING et al. (1971) und RIS et al. (1973) in Konzentrationen von 100-200mg/l angewendet. BISPING et al. (1971) berichteten, daß die oben erwähnten Konzentrationen zwar zur Unterdrückung von Staphylokokken als experimentell zugesetzten Kontaminanten ausreichten, jedoch nicht bei E. coli als Begleitkeim.

MYERS u. VARELA-DIAZ (1973) empfahlen den Zusatz von 300mg/l Neomycin zum Medium nach ELLINGHAUSEN und

5mg/l zum Medium nach FLETCHER zur Reisolierung von Leptospiren aus infiziertem Material und Reinigung von Stammkulturen von Sekundärkeimen.

Nach FÜZI (1973) kann Vancomycin, gegen das Leptospiren mit einer minimalen Hemmkonzentration von über 10mg/l resistent sind, als selektive Substanz der mit grampositiven Bakterien kontaminierten Leptospirenkulturen verwendet werden.

Filtration

Schulz (1959) empfahl Seitz-, Schott- und Chamberlandfilter zur Reinigung von Leptospirenkulturen. STALHEIM (1967) wendete Sterilfilter mit einer Porengröße von 0,45µm zur Reinigung von Harn von der üblichen Schmutzflora an.

Verdünnungen

MENGES et al. (1960), MITCHELL et al. (1966) und STALHEIM (1967) verdünnten Harn stark, um so die Kontaminationsflora zu eliminieren.

Versuchstiere

Versuchstiere werden schon seit langer Zeit als „lebende Bakterienfilter“ benutzt. (GSELL, 1952; SCHULZ, 1959; SVIRIDENKO, 1967; HANSON, 1972). Es wird dem Versuchstier (Meerschweinchen, Maus, Hamster) intraperitoneal das Untersuchungsmaterial injiziert und nach 15-60 Minuten werden mit steril entnommenem Herzblut Kulturen angelegt.

B. V. 3. Der Nachweis von Leptospiren durch den Tierversuch

Tierexperimente sind aus der Leptospirenforschung trotz verbesserter Kultivierungsmethoden nicht wegzudenken. Sie werden eingesetzt zur Reinigung verunreinigter Kulturen, zur Isolierung aus sekundärkeimhaltigem Material, zur Durchführung von Infektionsversuchen, zur Prüfung der Virulenz von Stämmen und therapeutischer Mittel. Als Versuchstiere bieten sich vor allem junge Meerschweinchen an, da diese für sämtliche pathogene Leptospiren empfänglich sein

sollen. Daneben werden hauptsächlich junge Goldhamster, Kaninchen und Mäuse verwendet. Einige Autoren berichteten über den erfolgreichen Einsatz von Chinchillas, weißen Ratten, Hühnerembryonen und Hühnerküken. Auf die Methoden und Problematik von Tierversuchen soll in dieser Arbeit nicht eingegangen werden. Folgende Arbeiten geben über dieses Thema nähere Hinweise:

VAN DER HOEDEN (1954), RINGEN u. OKAZAKI (1956), ROBERTS u. TURNER (1958), BÜRKI (1960), ALEXANDER et al. (1964) und KMETY et al. (1967)

B. V. 4. Der serologische Nachweis

MOCHMANN (1964) berichtete, daß ein Antikörpertiter gegen Leptospiren erst zwischen dem 6. und 8. Krankheitstag nachweisbar war und mit der 3.-5. Woche bei seinen Untersuchungen den Höhepunkt erreicht hatte. V.KNORRE (1969) fand beim Menschen zum Teil erst 2-3 Wochen oder später nach aufgetretener Krankheit positive Agglutinationstiter, also zu einem Zeitpunkt, zu dem die Patienten bereits genesen waren. Der Autor führte die hohe Dunkelziffer bei Leptospirosen des Menschen mit auf diesen Umstand zurück. Zum Zeitpunkt des Abortes hatten die von ALEXANDER et al. (1964) untersuchten Sauen den höchsten Antikörpertiter. MICHNA (1970) dagegen fand, daß der Antikörpertiter bei frisch abortierenden Sauen nicht nachweisbar war und erst 7-10 Tage nach dem Abort seinen Höhepunkt erreichte. Leptospirenantikörper können außer im Blutserum und Liquor cerebrospinalis noch im Urin, in der Milch (CARBREY et al., 1961), im Augenkammerwasser und im Muskelpreßsaft nachgewiesen werden. Beim Nachweis von Antikörpertitern kommen vor allem die Agglutinations-Lysis-Reaktion (ALR) und die Komplementbindungsreaktion (KBR) zum Einsatz, wobei die ALR von den meisten Autoren bevorzugt und von der WHO empfohlen wird. Nach den Untersuchungen von PALIT u. SHARMA (1971) zeigte die ALR die wenigsten heterologen Antikörpertiter. Beim indirekten Haemaggluti-

nationshemmungstest und der KBR traten bei den untersuchten Kaninchenhyperin unseren starke heterologe Mitreaktionen zwischen *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* und *L. autumnalis* auf.

Die Durchführung der mikroskopischen ALR ist wegen der Notwendigkeit eine große Anzahl verschiedener Serotypen einsatzbereit zu halten sehr arbeitsaufwendig. Deshalb wurde zum Teil die modifizierte ALR mit formolfixiertem Antigen angewendet (WHO, 1967). Von der WHO (1967) wurde vorgeschlagen die m-ALR Untersuchungen mit 4-14 Tage alten Kulturen mit einer Dichte von ca. 10^6 /ml vorzunehmen. Der Endpunkt der Verdünnung des Serums sollte bei weniger als 50% freien Zellen liegen.

Die Bewertung der Titerhöhen (negativ - fraglich - positiv) wird in der Literatur recht uneinheitlich gehandhabt.

Für die ALR ziehen die meisten Autoren die Grenzen wie folgt:

0 - 1 : 200 = negativ

1:200 - 1:400 = fraglich

ab 1 : 400 = positiv

Der minimale signifikante Titer wird dagegen von MICHNA (1967) mit 1:10 angegeben.

Bei der KBR bezeichnen MUSAEV (1948) und LUCAS (1966) eine Titerhöhe von 1:50 als positiv, YORK (1951) dagegen schon bei einer Verdünnung des Serums von 1:8.

Über die Dauer der Antikörperpersistenz können noch keine genauen Angaben gemacht werden. ZAHARIJA u. TODOROVIC (1965) berichteten, daß bei Pferden $5\frac{3}{4}$ Jahre post infectionem mit *L. pomona* noch Antikörpertiter von 1:100 festgestellt wurden. Die Autoren konnten jedoch Reinfektionen nicht sicher ausschließen.

B. VI. Die Verbreitung der Leptospireninfektionen
unter Schweinen, Rindern, Schafen und Zie-
gen in der Bundesrepublik und den europäischen
Nachbarländern

Über Ergebnisse serologischer Untersuchungen auf Leptospireninfektionen bei Schweinen, Rindern, Schafen und Ziegen geben die Tabellen 6-8 Auskunft. Zu diesen Ergebnissen ist folgendes anzumerken: Die Resultate der einzelnen Autoren lassen sich nicht oder nur zum Teil vergleichen, da unterschiedliche Serotypen bei der Agglutinations-Lysis-Reaktion verwendet wurden. Ebenso war die Anzahl der verwendeten Serotypen nicht identisch. Ferner sind, wie den Tabellen zu entnehmen ist, von den Autoren zum Teil differierende Grenztiter festgelegt worden. Des weiteren enthalten die Tabellen serologische Befunde von Tieren, die aus Beständen mit gehäuften Aborten stammten, welche mit „A“ gekennzeichnet sind. Ferner sind in den Angaben nicht das Alter der untersuchten Tiergruppen, die Nutzung der Tiere (Zucht oder Mast) und die Anzahl der untersuchten Bestände, bzw. bei Schlachttieren deren Herkunft enthalten.

Es läßt sich jedoch aus den Tabellen entnehmen, daß bei Schweinen die Leptospirenserogruppen *p o m o n a*, *i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* und *t a r a s s o v i* am häufigsten vertreten sind. Bei Rindern sind dies die Serogruppen *g r i p p o t y p h o s a*, *h e b d o m a d i s* und *i c t e r o h a e m o r r h a g i a e*. Bei Schafen herrschen ebenfalls *L. g r i p p o t y p h o s a* und *L. h e b d o m a d i s* vor.

Werden bei den Tabellen 6 und 7 die Tiere aus Beständen mit gehäuften Aborten und fehlender Angaben über die Herkunft sowie „positive“ Grenztiter unter 1:400 nicht berücksichtigt, so ergibt sich ein Anteil von 6,1% serologisch positiver Rinder bei Tieren die klinisch unauf-

fällig waren. Bei Schweinen liegt dieser Anteil nach den Untersuchungsergebnissen der aufgeführten Autoren bei 4,5%.

Aus diesen werten ist jedoch nicht zu folgern, daß Schweine im allgemeinen einen niedrigeren Durchseuchungsgrad erfahren als Rinder. Das Alter und die Nutzung der untersuchten Tiere spielt hier eine wichtige Rolle. So waren bei den untersuchten Schweinen ein erheblich höherer Anteil junger Masttiere vertreten als bei Rindern.

Abkürzungen, die in den Tabellen 6 und 7
enthalten sind

ict.	= L. icterohaemorrhagiae	austr.	= L. australis
pom.	= L. pomona	jav.	= L. javanica
grip.	= L. grippotyphosa	aut.	= L. autumnalis
tar.	= L. tarassovi	ball.	= L. ballum
can.	= L. canicola	bat.	= L. bataviae
hebd.	= L. hebdomadis		

Tabelle 6

Nachgewiesene Leptospiren-Antikörper bei Schweinen in Deutschland und europäischen Nachbarländern:

Gebiet	A u t o r	Jahr	unters. Tiere Ges.	Leptospira-Serogruppen (positiv in %)										pos. Ges. %	fragl. Ges. %	Grenziter pos.	Grenziter fragl.		
				lct.	pos.	grip.	tar.	can.	hebd.	aust.	jav.	aut.	ball.					bat.	andere
BRD	Kindler, M. et al.	1950	195	14,36	0,51											14,9	12,3	1:400	1:200
	Krüger, A.	1952	250	86,0			14,0									9,0	fehl	1:400	1:100
	Götz, P.	1953	230	5,7	0,4				3,0							9,1	—	1:400	—
	Lothoff, H. L.	1953	686													0	0	1:400	1:200
	Stolte, H. Chr.	1953	146													0	0	1:400	1:200
	Stolte, H. Chr.	1953	306	1,6	0,3	0,7										2,9	4,6	1:400	1:200
	Schlobberger, H. ea.	1954	135	3,0												7,4	—	1:400	—
	Schneiderhan, M.	1961	950	1,9												2,3	5,6	1:400	1:100
	Pfritzsche, K. et al.	1963	925			0,1	0,5	0,1	0,3	0,2	0,1					1,4	25,4	1:400	1:50
	Heber, L.	1963	1500	0,9	0,1	0,1		0,3	4,8							1,5	2,2	1:400	1:200
	Wojtek, H. L.	1966	A 392	6,6		6,4			3,4							17,95	6,4	1:400	1:200
	Lucas, H. H. *	1966	504	2,0	6,2	6,9		2,6	0,2							18,3	—	1:50	—
	Weise, E.	1967	459	2,6		0,4	1,0	1,0	1,0							4,1	15,9	1:400	1:100
	Redlich, H.	1970	200		0,5											1,5	fehl	1:400	fehl
DDR	Pozvarl, M.	1971	933													0	2,6	1:400	1:200
	Bisping, W. et al.	1971	A 94			1,0										1,1	2,1	1:400	1:200
	Stoll, L.	1954	545	2,2		1,5										3,7	12,8	1:400	1:100
	Mochmann, H.	1957	252	7,9	0,79	2,8										4,5	fehl	1:400	fehl
Belgien	Mochmann, H. et al.	1959	1000	3,4	0,3	0,1										11,5	fehl	1:400	1:100
	Liebsmann, H. et al.	1961	A 57	1,9		7,4										26,3	13,0	1:400	1:100
	Horsch, F.	1965	A1085	3,4	0,09	1,5	0,4	0,6	2,39							22,9	10,5	1:400	1:200
	Horsch, F. et al.	1966	A 69	1,4	63,7											65,4	5,8	1:400	1:200
CSSR	Horsch, F.	1967	A 310													76,5	—	1:400	—
	Schneider, H. D. et al.	1967	A 284	1,4		2,1	39,8									53,1	30,3	1:400	1:100
Dänemark	Riet, M. J. van Jelinek	1952	? 260	0,38	2,3	0,38	7,7									10,76	—	1:100	—
	Kmety, E. et al.	1957	? 74	+												74,3	—	1:100	—
Frankreich	Sebek, Z. et al.	1964	460	3,7	14,1	0,7	11,7	3,2	2,4	4,3	0,2					34,3	—	1:100	—
	Borg-Petersen, C. ea.	1956	403	3,72	0,25	2,23		0,5	1,24	9,18						18,12	fehl	1:400	fehl
Österreich	Bougien, Y.	1950	? 47													3,3	?	1:100	?
	Rosai, P. et al.	1954	? 84													72,3	—	1:100	—
Schweiz	Kolochine-Erber, B. et al.	1950	? 85													97,6	?	1:100	?
	Gaumont, R.	1960	172	+	+	+	1,0	0,8		0,07						36,0	—	1:100	—
Schweiz	Pittes, H.	1966	1347	7,3	9,3	2,6	1,3									49,4	—	1:100	—
	Kovacevics, T.	1965	78	16,7	1,3					9,0						21,3	—	1:100	—
Schweiz	Gsell, O. et al.	1952	50	0,4	0,06	0,4	0,2	0,06	1,0	0,2						26,0	?	1:300	?
	Wiesmann, F. et al.	1967	193	13,5	59,1	34,0										70,0	?	1:100	?
Schweiz	Breer, C.	1968	360	3,0	89,9	0,3	6,8	0,3								73,0	—	1:100	—
	Breer, C.	1968	1018	3,0	89,9	0,3	6,8	0,3								30,4	?	1:400	1:200
Schweiz	Breer, C.	1968	A 173	0,58	35,8	0,58										37,0	10,4	1:400	1:200

Tabelle 7

Nachgewiesene Leptospiiren-Antikörper bei Rindern in Deutschland und europäischen Nachbarländern

Gebiet	A u t o r	Jahr	uts. Tiere ges.	Leptospira-Serogruppen (positiv in %)										pos. ges. %	pos. ges. %	Gesamter pos. verd. 1:n	
				ict.	pon.	grip.	tar.	can.	hebd.	ausch.	jav.	aut.	ball.				bat.
BRD	Krüger, A.	1952	667A	0,2	0,2	5,4										5,7	400
	Herrreiner, A.	1953	347	0,3		4,9										5,2	400
	Steinberg, H. J.	1954	419			3,8		0,2								4,0	200
	Schneiderhan, M.	1961	2000A	0,3		0,1		0,1	0,4							0,9	400
	Bernuth, K. von	1962	1500	0,1	0,1	0,1		0,6	0,1	0,1						1,2	200
	Fritzsche, K. et al.	1963	666A			2,3										2,4	400
	Lucas, H. H.	1966	504	2,8	1,0	1,6		1,0	2,0							8,3	50
	Wojtek, H. L.	1966	211A	4,3		5,2		2,8								12,3	200
	Weise, E.	1967	813	0,7		8,3		1,6								10,6	100
	Dietse, J.	1968	1002	0,1	0,1	3,0			1,3			0,2		0,1		4,8	400
DDR	Bisping, W. et al.	1971	1640	0,2		0,4										0,6	200
	Chemnitz, H.	1953	122													0	320
	Stoll, L.	1953	520	0,8		5,4										6,2	400
	Mochmann, H.	1957	285	1,8		2,1		4,6	0,7					0,4		9,5	400
	Graubmann, H. D. et al.	1969	524		1,5											1,5	200
	Raetz, G. et al.	1969	104A		2,9											2,9	400
	Raetz, G. et al.	1973	3312			12,2										12,2	200
	Raetz, G. et al.	1973	171A			12,9										12,9	400
	Riel, M. J. van et al.	1952	278?	2,5		3,2	0,4		3,6							9,7	?
	Sebek, Z. et al.	1964	574	5,6	0,2	16,2	0,2		14,5	1,7			0,2	0,5	0,2	39,2	400
Europäische Nachbarländer	Konrad, J. et al.	1967	742	0,1		1,1			4,6							5,8	?
	Fennestad, K. L. et al.	1955	416?		0,2	0,5			1,7		1,0		0,2			3,6	400
	Borg-Petersen, C. et al.	1956	620A		0,2	0,3			1,6		0,6		0,2			2,9	300
		1956	212	0,5					1,0	0,8					1,4	3,3	100
	Floore, B. et al.	1964	154A	18,8		6,5		2,0		25,3						52,6	100
	Lataste-Dorolle, C.	1965	457	1,4	0,9	6,8			8,3							41,6	100
	Dabernat, H. et al.	1972	2080	14,2		11,2				13,9						17,5	100
	Wolff, J. W. et al.	1949	481?	4,0		2,1		0,2	0,2			0,6				39,3	100
	Buchmeiser, R.	1962	505	0,2	0,2	3,6				4,2						7,1	?
	Willinger et al.	1967	473?													8,1	300
CH	Wikerhauser, T.	1951	300?	2,7	0,7	0,3		1,7	16,7	0,3		0,4			27,1	?	
	Bürki, F.	1964	1287A		5,7	1,6				2,7				4,2		27,5	100
																10,0	5

* = Komplementbindungsreaktion

A = Abortus

? = ohne Angaben

Tabelle 8

Nachgewiesene Leptospiren-Antikörper bei Schafen und Ziegen in Deutschland und in der CSSR

Gebiet	A u t o r	Jahr	uts. Tiere ges.	Leptospira-Serogruppen (pos. %)						pos. gen. %	verd. ges. %	Grenztiter	
				ict.	pos.	grip.	can.	hebd.	aust.	aut.		pos.	verd.
BRD	Ringe, H.	1957	560	0,2		0,7	1,3				2,1	1,6	1:400
	Schneiderhan, M.	1961	3500	0,5		0,1		0,6			1,2	4,3	1:400
	Nees, K. F.	1961	1499	0,1	0,1		0,3	5,7		0,1	6,4	—	1:400
	Fritzsche, K. et al.	1963	231					48,0			48,0	14,3	1:400
	Wojtek, H. L.	1966	56			5,4					5,4	5,4	1:400
	Weise, E.	1967	156			16,0	1,3	8,3			25,6	—	1:400
DDR	Stoll, L.	1953	70			5,7					5,7	—	1:400
	Mochmann, H.	1957	347	2,3		1,4	0,3				4,0	—	1:400
	Fuchs, G. H. P. et al.	1962	500	0,2	0,2	1,4	0,4				2,2	3,4	1:400
	Graubmann, H. D. et al.	1970	815		0,12						0,12	0,12	1:400
	Stoll, L. (Ziegen)	1953	29	3,4		13,8					17,2	—	1:400
CSSR	Sebek, Z. et al. (Ziegen)	1964	373	2,6	1,1	3,2	0,3	10,5	0,5		18,2	—	1:400

ict. = *L. icterohaemorrhagiae*

pos. = *L. pomona*

hebd. = *L. hebdomadis*

grip. = *L. grippityphosa*

aust. = *L. australis*

can. = *L. canicola*

aut. = *L. autumnalis*

B. VII. Klinische und pathologisch-anatomische Befunde bei Leptospirosen im Rahmen der Schlachttier- und Fleischuntersuchung

B. VII.1. Allgemeines zur Klinik der Leptospirosen

Bei den Leptospirosen der Nutztiere in Mitteleuropa ist davon auszugehen, daß das klinische Bild weder ausgeprägt noch charakteristisch ist. In den meisten Fällen verläuft die Krankheit inapparent (ZURECK, 1960; ALEXANDER et al., 1964; OBIGER u. SCHÖNBERG, 1972). Die Leptospirose kann zwar nicht als Jungtierkrankheit bezeichnet werden, es sind jedoch hauptsächlich Jungtiere, die ausgeprägtere klinische Erscheinungen zeigen können. Bei erwachsenen trächtigen Rindern und Schweinen treten bei Infektionen im letzten Drittel der Trächtigkeit häufig Aborte auf oder es werden lebensschwache Tiere geboren (KEMENES, 1967; MICHNA, 1970).

B. VII.2. Klinik der Leptospirosen des Schweines

Nach MICHNA u. CAMPBELL (1969) können 3 Formen der Schweineleptospirose unterschieden werden:

Die subklinische Form bei Schlachtschweinen, die Ausscheider sind und so lange unbemerkt bleiben, bis menschliche Erkrankungen vorkommen.

Die akute oder subakute Form, die besonders bei Jungtieren auftritt, wenn diese von einem virulenten Stamm infiziert werden.

Reproduktionsstörungen, die sich in gehäuften Aborten, Totgeburten oder der Geburt lebensschwacher Ferkel äußern.

Der Verlauf der klinisch apparenten Fälle von Leptospirose ist abhängig vom Alter des Tieres, von Virulenz und Typ des Erregers, von der Höhe der Infektionsdosis und von auftretenden Sekundärinfektionen (HORSCH, 1968). Das klinische Bild äußert sich demnach nicht spezifisch.

Es können folgende Symptome auftreten:

Fieber bis 41°C, Anorexie, Depressionen, Mattigkeit, Teilnahmslosigkeit, Diarrhoe, Icterus, Conjunktivitis, Haemoglobinurie, Schwäche der Hintergliedmaßen, Nackensteifigkeit, Konvulsionen und Hautnekrosen an Ohren und Schwanzenden (KARYSEVA, 1964; ALEXANDER et al., 1964; KEMENES, 1967; MICHNA, 1970; FERGUSON, 1970; HANSON, 1972; HORSCH, 1974).

B.VII.3. Klinik der Leptospirosen des Rindes

Ebenso wie beim Schwein können auch hier 3 Verlaufsformen unterschieden werden. Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß inapparent erkrankte Leptospirenausscheider bei Rindern seltener vorkommen, was sicherlich mit der Dauer der Leptospirurie-Phase zusammenhängt.

Bei der akuten bzw. subakuten Form der Rinderleptospirose treten folgende Symptome auf:

Plötzliches Auftreten von Fieber bis 41°C, Anorexie und Depressionen. Haemoglobinurie, die oft nicht bemerkt wird und nur einige Stunden andauern kann, folgt der ersten Fieberphase. Die Farbe des Urins wechselt von leicht rosa bis tiefrot-schwarz. Diarrhoe, die meist von Obstipation gefolgt ist, Speichelfluß, bräunliche Verfärbungen unter der Zunge, Dyspnoe und hohe Atemfrequenz können beobachtet werden. Bei weniger akuten Fällen sind kaum klinische Symptome zu beobachten, die betroffenen Tiere kümmern und zeigen nur geringe Gewichtszunahmen.

Bei laktierenden Kühen kann es zu einem plötzlichen starken Milchleistungsrückgang kommen. Die Milch kann stark verändert sein, ohne daß die üblichen Mastitis-symptome auftreten. In den angelsächsischen Ländern ist daher auch bei einer Leptospirenmastitis die Bezeichnung „flabby udder mastitis“ gebräuchlich. In Asien und Osteuropa kommt es bei Leptospirosen des Rindes zu charakteristischen Hautnekrosen an Mutter, Perineum, an den Ohren und an der Schwanzspitze.

Die Veränderungen am abortierten Fetus und der Nachgeburt

bestehen in Ödemen der Nabelschnur, bräunlichen Kotyledonen, dunkelrotes Transsudat im Peritoneal- und Thoraxraum, petechialen Blutungen, Nierenschwellung und Lebervergrößerung (AWROROW, 1941; SUTHERLAND et al., 1949; FIELD u. SELLERS, 1950; LITTLE u. BAKER, 1950; INGRAM et al., 1952; GOCHENOUR u. YAGER, 1953; BORG-PETERSEN u. FENNESTAD, 1956; HAKIOGLU, 1958; MITCHELL u. BOULANGER, 1959; CLARK et al., 1960; ZURECK, 1960; WITTIG et al., 1967; CAROLL u. LE CLAIR, 1969; MICHNA, 1970; ANONYMUS, 1972).

Pathologische Anatomie der Leptospirosen

Nach HORSCH (1968) sind die pathologisch-anatomischen Veränderungen ebenso wie die klinischen Erscheinungen vom Typ des Erregers, sowie von der Widerstandsfähigkeit des infizierten Tieres abhängig. So kommt es auch in der pathologischen Anatomie der Leptospirose zu keinen charakteristischen Veränderungen. Im Stadium der Leptospirämie können eine akute katarrhalische Pneumonie, seröse Lymphadenitis der Bronchial- und Mandibularlymphknoten, eine katarrhalisch-haemorrhagische Gastroenteritis sowie Leber- und Milzschwellungen vorliegen (AWROROW, 1941; DROGUN et al., 1970; KOUDELA, 1971). Pathognostisch wertvoll scheinen bei abgelaufener Erkrankung grau-weißliche Herde als Folge einer interstitiellen Nephritis in den Nieren zu sein (BURNSTEIN u. BAKER, 1954; MICHNA, 1969; MICHNA, 1974). Nach MICHNA u. CAMPBELL (1969) sind dies die häufigsten Veränderungen, die beim Vorliegen einer Leptospirose zu erkennen sind. Sie bestehen aus 1-3 selten 5mm großen Läsionen, die eine grau-weiße Farbe besitzen und einzeln oder verteilt über die ganze Niere sein können. Teilweise, bei mehr akuten Fällen, konnte ein blutgefüllter Ring um den Focus, sowie petechiale Blutungen an den Nieren beobachtet werden.

Zusammenfassend muß gesagt werden, daß Leptospireenträger in Mitteleuropa bei der gegenwärtig praktizierten Form der Schlachttier- und Fleischuntersuchung nur zufällig erkannt

werden können und somit mit einer hohen Dunkelziffer gerechnet werden muß, wobei insbesondere leptospirenhaltige Nieren unbeanstandet zum Verbraucher gelangen können.

B. VIII. Kasuistik der Leptospiren-Infektionen bei
Schlächtern und Schlachthofangestellten

Deutschland vor 1945

Schon 1888, also 2 Jahre nachdem WEIL die Arbeit „Über eine eigentümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende akute Infektionskrankheit“ veröffentlichte, stellte FIEDLER fest, daß sich unter 13 Patienten mit morbus Weil 9 Schlächter und Schlachthofangestellte befanden. FIEDLER wies dabei auf einen Schweinemetzger hin, der zeitweilig sein Messer zwischen die Zähne zu nehmen pflegte. SANDER (1935) berichtete über die Erkrankung eines Schlachters an morbus Weil nach der Schlachtung eines Schweines, das nach Aussagen des Patienten icterische Erscheinungen zeigte. SANDER wies auf die Tatsache hin, daß bestimmte Berufsgruppen unter den „Weil-Patienten“ immer wiederkehrten. Er erwähnte Köche, Metzger und Schlachthofangestellte. WAGENER (1942) beschrieb den Ausbruch einer morbus Weil Endemie in einem Schlachthof unter 8 Kopfschlächtern, die hauptsächlich Krank- und Notschlachtungen vornahmen. Bei den Arbeitskollegen, die gesunde Tiere schlachteten, wurde kein Fall beobachtet. Nachforschungen ergaben, daß die 8 Personen Schweine geschlachtet hatten, die eine auffallende Gelbfärbung zeigten. Der Verfasser hielt es für erwiesen, daß sich die Arbeiter bei der Schweineschlachtung die Infektion zugezogen hatten und dies nicht durch mittel- oder unmittelbaren Rattenkontakt geschehen war. WAGENER betonte allerdings die Häufigkeit der Erregerübertragung durch Ratten, die sich besonders in unmittelbarer Nähe von Lebensmittelbetrieben ansiedeln.

Bundesrepublik Deutschland

STEIGNER (1956) ermittelte unter 109 Personen, die beruflich mit Fleisch und Schlachttieren in Kontakt kamen, 4 serologisch positive Reagenten. Drei dieser Personen

erinnerten sich an eine kürzlich überstandene Erkrankung. Hauptsächlich waren Notschlächter betroffen, die Übertragung durch Schlachttiere konnte bis auf einen Fall als gesichert gelten. FRITZSCHE u. KOHL (1961) konnten bei 59 untersuchten Schlachthofarbeitern in Rheinland-Pfalz keine Leptospirenantikörper nachweisen. Die Seren der Arbeiter wurden gegen 12 verschiedene Leptospirenserogruppen und -typen getestet.

Deutsche Demokratische Republik

HELMERT (1956) berichtete über das explosionsartige Ansteigen der Rattenpopulation auf einem Schlachthof. Der Autor schrieb wörtlich: „Die fast explosive Übervölkerung der Ratten hatte sich zu einer solchen Wucht und Aggressivität gesteigert, daß z.B. eine gepflasterte Straße im Schlachthofsgelände infolge Unterwühlung einsank, desgleichen eine bestimmte Stelle des nicht zementierten Fußbodens in der Schlachthalle“. Von 27 dort beschäftigten Fleischer erkrankten 7 an morbus weil, einer starb, die anderen überlebten mit zum Teil schweren gesundheitlichen Schäden. Typisch waren auch hier, wie in vielen anderen vergleichbaren Fällen, die anfänglich gestellten Fehldiagnosen. Eine Übertragung durch Ratten war wahrscheinlich. KATHE (1959) untersuchte auf 13 Schlachthöfen die Seren von insgesamt 796 Angestellten auf Antikörper gegen *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e*. Dabei erwiesen sich im Durchschnitt 4% der Personen als serologisch positiv. An den einzelnen Schlachthöfen schwankten die positiven Reagenten zwischen 0 und 26%, was in erster Linie abhängig von der Arbeitsplatzhygiene, d.h. der Rattenverseuchung war. In zweiter Linie spielt die Durchseuchung der Schlachttiere im Einzugsbereich des Schlachthofes eine Rolle. SCHMIDT (1961) berichtete über einen Fall von morbus Weil bei einem Schlächter, der einige Zeit zuvor eine Kuh und verschiedene Schweine mit „auffallender Gelbfärbung“ geschlachtet hatte.

204 Personen, die auf 5 verschiedenen Schlachthöfen beschäftigt waren, untersuchten FENSKE, E. u. FENSKE, G. (1969) auf Antikörper gegen *L. pomona* und *L. tarassovi*, Serogruppen, die in der DDR unter Schweinen am häufigsten verbreitet sind. 38 Personen reagierten positiv gegen *L. tarassovi*, 8 gegen *L. pomona*. Die Zahl der Reagenten schwankte in den einzelnen Schlachthöfen zwischen 0 und 34,4%. Bei Personen, die die Schlachtung nicht direkt vornahmen, sondern als Fleischbeschauer, in der sog. Kuttelerlei oder als Fleischtransporteure arbeiteten, konnten unter 194 Personen nur 3 positive Reagenten nachgewiesen werden. Die Autoren zogen daraus den Schluß, daß Leptospireninfektionen offenbar beim Schlachten der Schweine selbst, und nicht durch Kontakt mit dem Fleisch nach der Schlachtung zustande kommen. In einer weiteren Arbeit (FENSKE et al., 1969) zeigten die Autoren, daß die Antikörpertiter gegen *L. pomona* und *L. tarassovi* beim Schlachthofpersonal ein Indikator für die Verseuchung der Schweinebestände im Einzugsbereich der einzelnen Schlachthöfe darstellt. HERGT (1969) berichtete über 2 Fälle von Schweinehüterkrankheit, die durch *L. tarassovi* verursacht wurde. Die Betroffenen waren ein Schlächter, der sich mit dem Abstechen der Schweine beschäftigte und ein Hilfsschlachterlehrling, der in der Fettschmelze arbeitete und dort täglich Schweinenieren aussortieren mußte. Außer diesen Patienten wurden noch 25 weitere in der Schlachtung tätige Personen aus 2 verschiedenen Betrieben untersucht. Dabei wiesen 5 Personen Titer zwischen 1:800 und 1:3200 auf, ohne Krankheitserscheinungen gezeigt zu haben. Nach einer Aufstellung infizierter Schweinebestände wurden von WOLFF u. Krüger (1970) gezielte Untersuchungen auf das Leptospirosevorkommen bei Fleischern auf Schlachthöfen dieser Betriebe durchgeführt. Es wurden 142 Schlächter aus 4 schweineschlachtenden Betrieben serologisch untersucht und 5 serologisch positive Reagenten

gegen *L. p o m o n a* gefunden. Eine vorangegangene Erkrankung der Reagenten konnte nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Bulgarien

DIMITROV (1956) fand unter 12 gesunden Schlächtern in Warna 2 serologische Reagenten gegen *L. n i c o l a - j e w o* (Serogruppe *a u t u m n a l i s*) und einen gegen *L. p o m o n a*. Bei 5 Leptospiroseerkrankungen bei Schlächtern, die am gleichen Schlachthof beschäftigt waren, fand DIMITROV 4 mal *L. p o m o n a*- und 1 mal *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* - Antikörper. MATEEW et al. (1961) schlüsselten die einzelnen Arbeitsgänge auf Schlachthöfen in Bulgarien nach der Gefahrenquote auf. Dabei stehen die Schlächter an erster Stelle der gefährdeten Personen (32% reagierten serologisch positiv oder verdächtig). Es folgen die Arbeiter in der sog. Kuttelei (24,2%). Die daneben auf dem gleichen Schlachthof untersuchten Rinder und Schweine wiesen zu 48,2 bzw. 67,9% positive und fragliche Leptospirentiter auf.

CSSR

1954 berichtete KMETY über eine tödliche Leptospirose eines Fleischers, dessen pathologisch-anatomische Befunde auf einen morbus Weil Fall hinwiesen. Das Blutserum zeigte einen hohen Agglutinations-Lysis-Titer gegen *L. p o m o n a* (1:12800) und gegen *L. s e j r o e* (1:3200). Gegen *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* jedoch nur einen Titer von 1:200. In der Slowakei stellte KMETY (1957) fest, daß fast die Hälfte der von ihm untersuchten Schweinefleisch einer Leptospirose überstanden und ein weiteres Viertel inapparente Infektionen durchgemacht hatten. 2 Fleischer waren 2 mal an Leptospirose erkrankt. Am gleichen Schlachthof wurden bei 30% der untersuchten Schweine positive serologische Titer festgestellt. 50 Leptospirenstämme

wurden aus den Nieren der untersuchten Schlachtschweine isoliert, in 3 Fällen sogar 2 verschiedene Stämme aus einem Ausgangsmaterial. Den Großteil der Isolate bildeten je 21 p o m o n a- und „m i t i s“- Stämme. KMETY schloß die Übertragung dieser Zoonoseerreger durch Ratten aus, da die Rinderschlächter am gleichen Schlachthof keine positiven Titer aufwiesen. CERVOVA et al. (1962) untersuchten 164 Schlachthausangestellte serologisch und fanden 9,7% positive Reagenten. Es überwogen Antikörper gegen L. c a n i - c o l a und L. a u s t r a l i s. JINDRICOVA (1968) testete in den Jahren 1962 - 1965 362 Personen aus 23 Schlachthäusern serologisch auf Leptospirenantikörper. Es wurden 8-9,1% positive Reagenten gefunden. In der gleichen Zeit wurden bei 3 Angestellten klinische Anzeichen einer Leptospirose festgestellt. Bei Schweinezüchtern, die im Einzugsbereich der beobachteten Schlachthöfe arbeiteten, wurden zu 20,6% Antikörper gefunden. Die Autorin zog daraus den Schluß, daß die Arbeit der Schweinezüchter als potentiell exponierter angesehen werden muß, als die der Schlachthofarbeiter. Während KMETY (1957) die hohe Infektionsgefährdung der Schweineschlächter in der Slowakei hervorhob, konnten SEBEK u. JANICEK (1964) dies für Böhmen und Mähren nicht bestätigen, da hier Schweine seltener als Leptospirenausscheider fungieren. Bei 9,66% der 763 untersuchten Metzger und in der Fleischindustrie tätigen Personen konnten Leptospiren-Antikörper festgestellt werden. Damit lag diese Gruppe hinter den in der Landwirtschaft tätigen Personen (19,85%), Hausfrauen (12,6%) Arbeitern (10,68%), Rentnern (10,39%), im Nahrungsmittelgewerbe tätigen Personen (10,36%) und hinter einer Personengruppe, die professionellen Kontakt mit Tieren hatte (9,88%). KONRAD u. VOSTA (1967) konnten unter 304 untersuchten Schlächtern 6,0% positive Leptospiren-Antikörpertiter finden. Dabei überwogen Titer gegen L. g r i p p o t y - p h o s a. Die daneben untersuchte Stadtbevölkerung wies nur zu 2% positive Antikörpertiter auf.

Großbritannien

SCHONELL et al. (1966) untersuchten 96 Angestellte des Schlachthofes in Edinburgh serologisch auf Antikörper gegen verschiedene Zoonoseerreger. Es konnten bei 4 von 6 angestellten Schweineschlächtern bei der m-ALR Titer gegen *L. c a n i c o l a* gefunden werden. Insgesamt fanden sich 6 (6,2%) serologische Reagenten. Es wurden Titer bis zu 1:100 festgestellt.

Italien

In der italienischen Provinz Foggia fand TASSELLI (1965) unter 321 untersuchten Metzgern 26 (8,1%) serologische Reagenten gegen Leptospiren. Am häufigsten fanden sich Antikörper gegen *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e*, *L. p o i*, *L. c a n i c o l a*, *L. p o m o n a* und *L. b r a t i s l a v a*. Bei 8 Personen wurden Titer gegen mehrere Leptospirenserotypen gefunden. Die Titerhöhen reichten von 1:100 bis 1:5000.

Jugoslawien

In Zagreb stellten ZAHARIJA et al. (1955) bei 89 untersuchten Schlachthofangestellten 27 (30,3%) serologische Leptospirenreagenten fest. ZAHARIJA (1957) beschrieb 2 Krankheitsfälle unter Metzgern des Zagreber Schlachthofes. Es konnten *L. p o m o n a* und *L. s e j r o e* aus dem Blut der Patienten isoliert werden.

Schweiz

1938 beschrieb HADORN den Fall eines Metzgerlehrlings, der an der „maladie des jeunes porchers“ erkrankte. Anamnestiche Nachforschungen ergaben eine schlecht heilende Wunde an der Hand und vor ca. 9 Tagen die Schlachtung eines Schweines, das an Pasteurellose erkrankt war. GSELL et al. (1948) wiesen zum ersten Male nach, daß die Schweinehüterkrankheit, maladie des jeunes porchers, außer von *L. p o m o n a*

auch von der Serogruppe „mitis“, der heutigen L. t a r a s s o v i hervorgerufen werden kann. Unter 7 beobachteten „Mitis-Leptospiren“ fand sich auch ein Metzgerlehrling, der in der Schweineschlachtung tätig war. WIESMANN (1949) stellte die von ihm in der Schweiz 1946 - 1948 festgestellten Leptospirosefälle nach Berufen und Erreger-serogruppen zusammen. Unter 234 gemeldeten Fällen fanden sich 20 (8,5%) Metzger. 1952 berichtete GSELL von einem Fleischer, der sich beim Aufhängen eines notgeschlachteten Schweines verletzte und mit dessen Blut in Berührung kam. Schon 2 Tage danach erkrankte er an hohem Fieber ohne Gelbsucht, Psychose und Delirium traten in den Vordergrund. Serologisch konnte eine „Pomona-Leptospirose“ festgestellt werden. SCHÄLLIBAUM (1967) untersuchte das gesamte Schlachthofpersonal des Schlachthofes in St. Gallen serologisch. Es fanden sich bei 40% der mit Schlachttieren in Berührung kommenden Personen Antikörper gegen Leptospiren.

U D S S R

In einem Leningrader Fleischkombinat untersuchte POPOWA (1960) 2809 Personen serologisch auf Leptospirenantikörper. Bei 175 positiv reagierenden Personen konnten 77 mal L. p o m o n a und 31 mal L. g r i p p o t y - p h o s a festgestellt werden. In 3 Fällen gelang sogar die Isolierung von Leptospiren aus dem Blut. Beim Schlachthallenpersonal konnten 86% positive Reagenten ermittelt werden, während es bei den Angestellten in der Wurstabteilung nur 1,9% waren.

Ungarn

KUBINYI u. HEGYESSI (1967) fanden bei 47% der untersuchten Schweineschlachthofarbeiter Antikörper gegen Leptospiren. Es wurden 70 Arbeiter untersucht davon erwiesen sich 33 als serologisch positiv. Es wurden vor allem Anti-

körper gegen *L. t a r a s s o v i* und *L. p o m o n a* ermittelt. Das geometrische Mittel der Antikörpertiter lag bei 1:227. Des weiteren berichteten die Autoren über 21 Erkrankungen an Leptospirose bei Fleischhauern in den Jahren 1959 - 1965, die als Berufskrankheiten anerkannt wurden. Von 75 untersuchten Arbeitern einer Salamifabrik reagierten 5 (6%) positiv. Bei einer Kontrollgruppe, die 181 Personen umfaßte, reagierten nur 3% der Personen serologisch positiv.

Übersee

1953 teilten STEVENSON et al. mit, daß sich unter Melbournier Schlachthofangestellten 7,6% serologisch positive Leptospirenreagenten befanden. In den REPORTS ON ZOONOSSES (1957) wurde von einer Angestellten eines Schlachthofes in den U S A berichtet, deren Aufgabe es war, Nieren frisch geschlachteter Schweine aus ihren Kapseln zu lösen. Nach Überstandener Erkrankung wurden bei dieser Frau serologisch Titer gegen *L. p o m o n a* und *L. s e j r o e* nachgewiesen. MASTERSON u. SCHNURRENBERGER (1960) gaben die Verseuchung der Schlachthofarbeiter in Ohio (U S A) durch *L. p o m o n a* mit 1,2% an. Es wurden insgesamt 1908 Personen serologisch untersucht. REINHARD (1953) dagegen fand bei 35 untersuchten Schlachthofarbeitern aus Virginia (U S A) 14,2% serologische Reagenten gegen *L. p o m o n a*. TOBIE u. MC CULLOUGH (1961) untersuchten 246 Fleischbeschauer und Tierärzte in den U S A serologisch und stellten bei 11,3% der untersuchten Personen Antikörper gegen *L. p o m o n a* und bei 2% gegen *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* fest. HAMDY et al. (1962) fanden in der V A R unter 185 untersuchten Schlachthofangestellten bei einem Blut-sammler Antikörper gegen *L. g r i p p o t y p h o s a*. FAINE (1970) berichtete aus Südastralien, daß teilweise 50% der Schlachthofarbeiter serologisch positiv reagierten, während die Verseuchung des Viehbestandes im Durchschnitt bei 30% lag.

Eine Übersicht über die hier aufgeführten Infektionen .
beim Schlachthofpersonal gibt die Tabelle 9.

Die vorstehende Literaturstudie weist auf die relativ hohe Morbiditätsrate der Schlächter hin. FENSKE, E. und FENSKE, G. (1969) nehmen an, daß sich unter dem Gesichtspunkt der Morbidität die Leptospirose der Schlächter heute als die bedeutungsvollste Zooanthroponose und Berufsinfektion erweist.

Auf die Infektionsgefahr der Schweineschlächter wiesen besonders FIEDLER (1988), SANDER (1935), WAGENER (1942), HADORN (1938), GSELL (1948), KINDLER u. SCHINDLER (1950), KMETY (1957), SCHMIDT (1961), FENSKE et al. (1969), JINDRICOVA (1968), HERGT (1969), WOLFF et al. (1970), LICERAS DE HIDALGO (1970) hin.

SANDER (1935), WAGENER (1942) und SCHMIDT (1961) vermuteten die Infektionsquelle in Schlachtschweinen, die einen auffälligen Icterus zeigten. Infektionen durch leptospirenhaltigen Rattenurin bei Schlächtern hielten HELMERT (1956), KATHE u. ENGELHARDT (1953) und KATHE (1955/56) bei den von ihnen untersuchten Fällen für wahrscheinlich. Infektionen bei Notschlächtern erwähnten WAGENER (1942) und STEIGNER (1956). STEIGNER (1956) ermittelte unter 109 serologisch untersuchten Schlächtern auch einen Ferdeschlächter, der einen Titer gegen *L. grippotyphosa* aufwies. Auffällig gering ist der Anteil der Rinderschlächter bei Leptospireninfektionen. Dies wurde damit erklärt, daß das Verweilen der Leptospiren im Rinderorganismus nur kurzfristig ist, da ein Widerspruch zwischen hoher serologischer Positivität und der Negativität beim Versuch des direkten Nachweises aus den Nieren dieser Tiere keine andere Erklärung zuläßt (SEBEK u. JANICEK, 1964).

Waren früher häufig Ratten die vermutete Infektionsursache, nach MATEEW et al. (1961) sind Fälle von morbus Weil unter Schlachthofarbeitern fast ausschließlich durch Ratten verursacht, so kommt es heute zu Erkrankungen, die durch andere Serogruppen verursacht sind und deren Träger Schweine, insbesondere die aus der Zucht ausgeschlossenen

Sauen sind.

Der Infektionsmodus wird von KATHE (1959) und WOLFF u. KRÜGER (1970) dahingehend erklärt, daß bei der Excenteration der Harnorgane es sich oft nicht vermeiden läßt, daß Harn oder Nierengewebsflüssigkeit die oft aufgeweichten, Schrunden und kleine Verletzungen zeigenden Hände der Schlächter kontaminieren. Da Harn infizierter Schweine leptospirenhaltig sein kann und Leptospiren sich bevorzugt in den Nieren ansiedeln, stellen die oben erwähnten Arbeitsgänge die bedeutendste Infektionsgefahr dar. Hinzu kommt, daß kleinste Verletzungen eine ideale Infektionspforte für Leptospiren, die nach Ansicht vieler Autoren nicht durch die intakte äußere Haut gelangen können, darstellen.

Tabelle 9

Nachgewiesene Leptospirosen und serolog. Reaktionen bei Schlachthofpersonal

Gebiet	Autor	Jahr	unters. Pers. gesamt	Leptospira-Serogruppen (positiv in %)					pos. ges. % Quelle	angen. klin. Er- krkg.	Titer	Personal- Kategorie
				pom.	tar.	hebd.	ict.	can.	jav.	grip.	aut.	
Deutschland	Dtsch.Reich	Fiedler, A.	1888	9			100					Schl.
	Dtsch.Reich	Sander, F.	1935	1			100					Schl.
	Dtsch.Reich	Wagener, K.	1942	8			100					Schl.
	BRD	Steigner, K. Fr.	1956	109			0,9	0,9	1,8			1:400 Schl.-Ag. + Schl.-Ag. + Schl.-Ab. + Schl.
	BRD	Fritzsche et al.	1953	59								Schl.-Ag.
	BRD	Kathe, J. et al.	1953	77			10					Schl.-Ag.
	DDR	Helmert, A.	1956	27			25,9					Schl.
	DDR	Kathe, J.	1959	796			4					Schl.-Ag.
	DDR	Schmidt, A.	1961	1			100					Schl.
	DDR	Fenske, E. et al.	1969	180		17,8						Schl.
Deutsche Demokratische Republik	DDR	Fenske, E. et al.	1969	111		0,99						Schl.-Ab.
	DDR	Fenske, E. et al.	1969	204		3,9	21,1					Schl.
	DDR	Fenske, E. et al.	1969	194		0,5	1					Schl.-Ab.
	DDR	Hergt, R. et al.	1969	2		100						Schl.
	DDR	Wolff, F. et al.	1970	142		3,5						Schl.
	Bulgarien	Dimitrow, D.	1956	12		8,3						Schl.
	Bulgarien	Dimitrow, D.	1956	5		80						Schl.
	Bulgarien	Mateew, D. et al.	1961	44			20					Schl.-Ag.
	Bulgarien	Mateew, D. et al.	1961	370			1,4	1,4	1			Schl.-Ag.
	Bulgarien	Kmety, E.	1954	31			1,1	1,4				Schl.
Sowjetunion	CSSR	Kmety, E.	1957	?			+					Schl.
	CSSR	Kmety, E.	1957	362		0,55	+					Schl.-Ag.
	CSSR	Jindrichova, J.	1968	89			3	1,65	3,3	1,37		Schl.-Ag.
	CSSR	Zaharjts, J. et al.	1955	89								Schl.-Ag.
	Jugoslawien	Hadorn, W.	1958	1		100						Schl.-Ag.
	Schweiz	Gsell, O.	46/48	6		83,3						Schl.
	Schweiz	Wiesmann, E.	1949	20		65						Schl.
	Schweiz	Schallibaum, R.	1967	45		32,5						Schl.
	Schweiz	Schallibaum, R.	1967	45		22,5						Schl.
	Schweiz	Schallibaum, R.	1967	45		22,5						Schl.
Andere europäische Länder	Argentinien	Aguirre, W. G.	1967	107								Schl.-Ag.
	Australien	Stevenson et al.	1953	422		+						Schl.-Ag.
	Australien	Faine, S.	1970	?								Schl.-Ag.
	Australien	Faine, S.	1970	?								Schl.-Ag.
	Peru	L. de Hidalgo, J.	1970	26		+						Schl.-Ag.
Übersicht	USA	Masterson, J.	1960	1908		1,2						Schl.-Ab.
	USA	Masterson, J.	1960	1908		1,2						Schl.-Ab.
	USA	Masterson, J.	1960	1908		1,2						Schl.-Ab.
	USA	Masterson, J.	1960	1908		1,2						Schl.-Ab.
	USA	Masterson, J.	1960	1908		1,2						Schl.-Ab.
pom. = pomona				can. = canicola	Sw = Schwein (i. = iktetisch)				Schl. = Schlächter			
tar. = tarassovi (chem. hyos)				jav. = javanica	Pf = Pferd				Schl.-Ag. = Schlachthofangestellter			
hebd. = hebdomadis				grip. = grippitoxa	R = Ratten				Schl.-Ab. = Schlachthofarbeiter			
ict. = icterohaemorrhagiae				aut. = autumnalis	! = Notsschlachtung				Swz = Schweinezüchter			

B. IX. Infektionswege bei Menschen und Tieren

1. Die orale Infektion

Der oralen Infektion kommt keine so große Bedeutung zu, wie der percutanen Infektion. Sie soll jedoch hier ausführlicher bearbeitet werden, da sie im Rahmen dieser Arbeit die größere Aufmerksamkeit verdient.

a. Experimentelle Infektion bei Tieren mit Leptospirenkulturen und infiziertem Gewebematerial:

WIRTH (1937) gelang es einen Hund zu infizieren, indem er ihm leptospirenhaltigen Rattenurin einflößte. 1947 berichtete KATHE von der oralen Infektion von Mäusen mit *L. grippotyphosa*. Junge Kanalaratten konnte VAN THIEL (1948) mit Leptospirenbouillon infizieren. Von 10 Ratten erkrankten 3 bei einer Infektionsdosis von $2-8 \times 10^7$ Leptospiren. FIELD u. SELLERS (1950) versuchten ohne Erfolg Kälber mit Emulsionen von Lebern und Nieren infizierter Meerschweinchen oral zu infizieren. BURNSTEIN u. BAKER (1954) infizierten 1 von 7 im Versuch stehenden Schweinen oral mit 1ml defibriniertem Blut erkrankter Meerschweinchen. KOTOWA (1955) berichtete von der erfolgreichen Infektion von Zieseln durch Verfütterung von infiziertem Fleisch. REILLY (1968) infizierte 1 von 5 Opossums, 1 von 6 Skunks und 2 von 3 Rotfüchsen, aber keinen von 7 Waschbären mit Gelatine kapseln, die *L. grippotyphosa* enthielten. Die Kapseln lösten sich erst im Duodenum auf und erzeugten bei den oben genannten Tieren eine Infektion.

b. Infektionen durch Lebens- und Futtermittel:

Beim Menschen

JANBON et al. (1937) berichteten von einer morbus Weil Endemie unter 23 Bergarbeitern, deren Lebensmittel von Ratten angenagt worden waren und durch deren Urin ver-

schützt waren. VOGT (1937) beobachtete den Fall einer Leptospirose bei einem 29 jährigen Lehrer, der 8 Tage nach dem Genuß von Schinken erkrankte, der im Keller aufbewahrt worden war und Spuren von Nagerfraß zeigte. BORG-PETERSEN (1944) führte Erkrankungen durch *L. sejiro* bei Landwirten auf Kontamination der Speisen durch leptospirenhaltigen Mäuseurin zurück. VISKOVSKY (1944) berichtete von einer Leptospiroseendemie in Leningrad, die auf den Genuß von Lebensmitteln zurückzuführen war, die mit Rattenurin kontaminiert waren. KOWALSKI (1948) gibt eine Leptospiroseendemie nach Fleischgenuß an. In einer Kinderheilstätte kam es zu einer Leptospirose bei 27 Kindern und einem Teil des Pflegepersonals. Sie waren 12 Tage nach dem Genuß von Fleisch einer an „infektiöser Gelbsucht“ erkrankten Kuh erkrankt. Es wurden jedoch keine weitergehenden Untersuchungen durchgeführt.

Beim Tier

CATCHPOLE (1934) führte das epizootische Auftreten von Leptospirosen unter Silberfüchsen in England auf Verunreinigung des Futters mit Rattenurin oder auf Ratten zurück, die in den Gehegen von den Füchsen gefangen und gefressen wurden. MIESSNER u. DEDIE (1937) verfütterten 2 künstlich infizierte Meerschweinchen an einen Jungsilberfuchs und konnten nach einer Inkubationszeit von 7 Tagen eine Leptospirose hervorrufen. MIESSNER u. DEDIE (1937) ebenso wie WALCH-SORGDAGER (1939) waren der Ansicht, daß erkrankte Ratten bzw. Silberfüchse ihr Futter mit leptospirenhaltigen Urin kontaminieren und ihre Artgenossen, die das Futter fressen, sich auf diese Weise infizieren. SCHOOP konnte Rotfuchswelpen infizieren, indem er Ratten, die Leptospirenausscheider waren, an sie verfütterte. ZISS (1951) konnte durch die Verfütterung experimentell infizierter Kälber an Hunden und Katzen Leptospirosen hervorrufen. VAN DER HOEDEN (1958) führte

die Häufigkeit von Leptospirenträgern bei Igeln darauf zurück, daß diese Tiere sich hauptsächlich von Mäusen ernähren. KUSNIR et al. (1961) beobachteten in einer kleinen Pelztierfarm in der UDSSR unter Silberfüchsen und Nerzen eine Leptospiroseendemie. Als Ursache wurde infektiöses Pferdefleisch von ausgemusterten Pferden angesehen. MICHNA (1962) konnte eine Leptospirose bei Welpen erzeugen, indem er Schweinenieren, die virulente Erreger enthielten, verfütterte. REILLY et al. (1970) konnten bei 2 von 7 Beutelratten, 3 von 8 Skunks und 2 von 10 Rotfüchsen aber bei keinem von 16 Waschbären eine Leptospirose durch Verfütterung von Mäusen, die mit *L. grippotyphosa* infiziert waren, hervorrufen. Sie führten die geglückten Infektionen darauf zurück, daß sich beim Verschlucken der Beutetiere große Brocken im Magen befinden, die nicht ganz vom Magensaft durchtränkt werden können und so die Leptospiren zumindest im Innern des Brockens geschützt sind. Eine weitere Möglichkeit wäre der puffernde Effekt der zu verdauenden Nahrung, der die H-Ionenkonzentration des Magens nicht so weit absinken läßt, daß eine vollständige Bakterizidie erreicht wird.

c. Infektionen auf dem Weg über Trink- und Tränkwasser:
Beim Menschen

Die am häufigsten in der Literatur zitierte Arbeit über eine Trinkwasserepidemie ist die von JORGE (1932). Dabei kam es zu morbus Weil Erkrankungen unter 126 Personen in Lissabon. Die Ursache war ein mit Ratten bevölkerter Trinkbrunnen. ZUELZER (1935) konnte aus einer Wasserpumpanlage in Dänemark Leptospiren isolieren, die ein Haus, in dem 3 Bewohner erkrankt waren, von denen einer starb, mit Trinkwasser versorgte. MARTIN (1938) nahm an, daß Bergarbeiter, die oft erkrankten, von dem Untergrundwasser, das sie häufig tranken, infiziert wurden. EHLER (1938) berichtete über eine Trinkwasserendemie unter

Schulkindern in der CSSR, die in einem stark mit Ratten verseuchten Dorf vom Brunnenwasser des Schulhofes getrunken hatten und sich wahrscheinlich daran infizierten. Es erkrankten 29 Kinder und 2 Erwachsene. RANKOV (1955) veröffentlichte einen ähnlichen Fall, der sich in Stari Becej, Jugoslawien, ereignete und bei dem 400 Personen betroffen waren. 8 Menschen starben während dieser Endemie an morbus Weil. Die Ursache der Verseuchung des betreffenden Brunnens konnte nicht genau geklärt werden, aber auch diese Stadt war stark mit Ratten verseucht. HAUNZ u. CARDY (1952) berichteten über die Erkrankung einer Familie an L. c a - n i c o l a. Die Verfasser nahmen an, daß das Trinkwasser, das in einem Eimer aufbewahrt wurde, vom Hund der Familie, der L. c a n i c o l a - Ausscheider war, verseucht worden war.

Beim Tier

Auch bei Tieren finden sich, wenn auch spärlich, Angaben über Infektionen durch das Tränkwasser. So beschrieb 1960 ANGELOFF eine Endemie in Bulgarien mit L. „bovis“, bei der 3 Kühe und 45 Kälber an Haemoglobinurie, Leptospiurie und Icterus erkrankten. Die Tiere hatten sich auf einer Weide, die von einem am Sofioter Schlachthof vorbeiführenden Kanal bewässert wurde, infiziert. Aus demselben Kanal wurden die Tiere auch getränkt.

d. Infektionen auf dem Wege über die Milch:

Die Ansichten über die Möglichkeit einer Infektion durch den Genuß von Milch sind nicht einheitlich, da unterschiedliche Überlebenszeiten der Erreger in diesem Substrat festgestellt wurden.

ALISOVA (1946) stellte fest, daß Leptospiren in roher Kuhmilch 3 Tage überleben konnten. BERNKOPF et al. (1948) konnten bei künstlich infizierter Milch, die vorher autoklaviert wurde, eine Lebensdauer von mindestens 3 Tagen bei Kühlschranklagerung feststellen.

Der Nachweis gelang durch den Tierversuch. KIRSCHNER u. MAGUIRE (1957) beobachteten, daß Milch eine hohe leptospirozide Wirkung hatte. In roher Kuhmilch waren die Erreger nach 30 Minuten abgestorben. In mit Wasser verdünnter Milch dagegen überlebten sie 60 Tage. KIRSCHNER et al. (1957) teilten mit, daß der Protoplasmazyylinder der Leptospiren innerhalb von 45 Minuten in der Milch zerstört wird und nach 20-40 Stunden nur noch der Achsenfaden, der von einer Protoplasmamasse umgeben war, zu sehen war. MITCHELL u. BOULANGER (1959) verneinten die Gefährdung der öffentlichen Gesundheit selbst bei Anwesenheit von Leptospiren in der Milch und verwiesen auf die leptospirozide Wirkung dieses Lebensmittels. Die Autoren konnten in zwei Fällen aus der Milch *L. pomona* isolieren, ohne daß bei diesen Kühen Antikörper im Serum festzustellen waren. ALISOVA (1946) dagegen beobachtete Leptospirosefälle bei Menschen nach dem Genuß roher Milch von kranken und genesenden Kühen. SCHNURRENBERGER et al. (1961) konnten während der leptospirämischen Phase der Krankheit bei Kühen aus der Milch *L. pomona* isolieren. Sie sahen eine Gefährdung der ländlichen Bevölkerung darin, daß es unter dieser Bevölkerungsgruppe noch immer weit verbreitet ist, die noch warme Milch direkt nach dem Melken zu trinken.

2. Die perkutane Infektion

a. Durch Berührung von Fleisch und Organen der Schlacht-tiere:

Bei diesem Infektionsmodus sind natürlicherweise die Personengruppen am stärksten betroffen, die berufsbedingt mit Fleisch und Organen in Kontakt kommen. Auf diese Gefährdung wird in einem gesonderten Kapitel hingewiesen. Aber auch bei Hausfrauen und Köchen sind Fälle von Leptospirosen bekannt geworden, wobei sich diese Personen wahrscheinlich bei der Zubereitung von Nieren infiziert hatten.

KMETY (1957) beobachtete in der CSSR drei solcher Fälle bei einer Hausfrau, einer Köchin und einem Studenten, der für sich selbst kochte. Ein direkter Schweinekontakt konnte bei keinem dieser Fälle nachgewiesen werden. Die Betroffenen infizierten sich mit *L. pomona* bzw. *L. tarassovi*. Ein ähnlicher Fall wurde 1971 aus der DDR berichtet (HERGT, 1971). Dabei erkrankte eine Hausfrau 4 Tage nach der Zubereitung von Schweinenieren an einer Meningitis, die später als Leptospirose, hervorgerufen durch *L. tarassovi*, diagnostiziert wurde.

KMETY (1957) konnte aus 460 untersuchten Schweinenieren „gesunder“ Schlachtschweine 47 Leptospirenstämme züchten. VESELINOFF et al. (1960) gelang die Isolierung von Leptospiren bei 20 von 205 untersuchten Schweinenieren. Beide Veröffentlichungen ließen Schweinenieren als bedeutende Gefahr für den Menschen erkennen.

b. Durch Oberflächen- und Abwasser:

Das Baden und Schwimmen in kontaminierten Gewässern stellt eine der bedeutendsten Infektionsgefährdungen dar, was unter bestimmten Umständen zu regelrechten Endemien führen kann. In erster Linie stellen infizierte Rinder- und Schweineherden die Ursachen der Wasserkontamination dar, indem sie die an die Weiden grenzenden Gewässer mit leptospirenhaltigen Harn verseuchen (MITOV u. JANKOV, 1959; DIESCH u. MC CULLOCH, 1966). Urin infizierter Tiere enthaltendes Wasser der Flüsse kann die Zoonose über Kilometer verbreiten, wie GSELL (1951) mitteilte. Aber auch Rattenpopulationen der Uferregion können die Ursache verseuchter Gewässer sein. Endemien wurden unter anderem beschrieben von BORDJOSKI (1957), DOLD et al. (1958), ANGELOFF (1960), LAKATOS (1965), CRAWFORD et al. (1971). Kanalarbeiter sind ebenfalls stark gefährdet. Bei dieser Berufsgruppe kommt es vorwiegend zu einer Infektion mit *L. icterohaemorrhagiae*, deren hauptsächlichstes Reservoir die Ratte dar-

stellt. Beispiele für Infektionen dieser Gruppe lieferten unter anderen FUCHS (1960) und KUBINYI u. HEGYESSI (1967). An die in Reisfeldern auftretenden Leptospiren knüpfen Arbeiten von BABUDIERY (1953), MITOV u. JANKOV (1959) und IOLI u. MTATACE-RASE (1963) an.

Isolierungen von Leptospiren aus Oberflächenwasser erfolgten unter anderem von GILLESPIE et al. (1957), CLARK et al. (1962) und DIESCH u. MC CULLOCH (1966).

c. Durch direkten Kontakt mit Tieren:

Bei diesem Infektionsweg kommt es meist zu Einzelerkrankungen, während es beim indirekten Kontakt mit Tieren durch Oberflächen- oder Abwasser meist zu Gruppenerkrankungen kommt. Potentielle Träger und Ausscheider von Leptospiren, von denen die Literatur im Zusammenhang mit Erkrankungen des Menschen besonders häufig berichtet, sind Ratten, Mäuse, Igel, Schweine, Hunde und Rinder. Daneben kommt noch eine Vielzahl anderer Tiere, die eine direkte Gefahr für den Menschen darstellen, in Betracht, wobei es sich aber mehr oder weniger um Einzelfälle handelt.

Ratten- und Mäusekontakt

Besonders gefährdet sind hier Vertreter von Berufen wie z. B. Zoowärter, Versuchstierpfleger, Schädlingsbekämpfer, Arbeiter in Abwasser- und Kläranlagen und Beschäftigte der Lebensmittelindustrie (FUCHS, 1960). Die Erbsenpflückerkrankheit, eine durch *L. grippotyphosa* hervorgerufene Leptospirose, die zumeist Landarbeiter auf mäuseverseuchten Feldern betraf, gehört durch die Mechanisierung in der Landwirtschaft fast der Vergangenheit an. Die Infektion erfolgt gewöhnlich durch den leptospirenhaltigen Urin der Tiere, die in Stress-Situationen den sog. Angsturin verspritzen (HELMERT, 1956). Berichte über Ratten als Überträger von Leptospiren beziehen sich

meist auf *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* (WELCKER, 1938; CHANG et al., 1948; KATHE u. ENGELHARDT, 1953; KATHE, 1955/56 u. 1959; KATHE et al., 1964; KUBINYI u. HEGYESSY, 1967).

Schweinekontakt

Der Umgang mit Schweinen stellt eine starke Infektionsgefährdung dar. Diese erstreckt sich nicht nur auf den Schlachtprozeß (siehe gesondertes Kapitel), sondern auch auf Zucht und Haltung. Unter anderen berichteten über Infektionen nach Schweinekontakt GSELL (1946), GSELL u. WIESMANN (1948), VAN DER HOEDEN (1956), SEILER u. NORVAL (1956), COGHLAN et al. (1957), KMETY (1957), BORDJOSKI (1957), MITOV u. JANKOV (1959), ANGELOFF (1960), STEELE (1960), KOLOCHINE-ERBER u. MAILLOUX (1960), KOLOCHINE-ERBER u. MAILLOUX (1961), LAKATOS (1965), LAWSON u. MICHNA (1966), VAN DER HOEDEN et al. (1967), WIESMANN (1967), JINDRICOVA (1968), MICHNA u. CAMPBELL (1969), FENSKE, E. u. FENSKE, G. (1969), FENSKE et al. (1969), WOLFF u. KRÜGER (1970). Die Infektion erfolgt hauptsächlich durch leptospirenhaltigen Urin bzw. Stallabwässer. Es handelt sich vornehmlich um die Serogruppen *p o m o n a*, *t a r a s s o v i* und *c a n i c o l a*, die vom Schwein auf den Menschen übertragen werden.

Hundekontakt

Fälle von Canicolasfieber, die durch den Kontakt mit Hundeurin verursacht werden, kommen sporadisch vor und sind in Anbetracht der großen Verbreitung des Haushundes überraschend selten (ANONYMUS, 1972). Die Infektion durch leptospirenhaltigen Hundeurin erfolgt meist durch das Aufwischen von Urinlachen erkrankter Tiere. Es werden hauptsächlich private Hundehalter betroffen, aber auch Berufserkrankungen kommen vor (Hundeführer, Pfleger in Tierheimen, Tierärzte). Es handelt sich vorwiegend um

Erkrankungen durch *L. c a n i c o l a*. Über Erkrankungen des Menschen berichteten unter anderen WELCKER (1938), CAMPBELL et al. (1950), MARCUSE u. POHLMANN (1951/52), PETRU u. POKORNY (1955), KATHE (1955/56), BACHMANN (1956), KATHE (1959), STEELE (1960), BIGLER et al. (1970), FUCHS u. HARTMANN (1974).

Rinderkontakt

Erkrankungen nach Kontakt mit infizierten Rindern werden nicht so häufig beschrieben, wie dies bei Schweinen der Fall ist. Eine der Ursachen ist darin zu suchen, daß Rinder eine kürzere Phase der Leptospirurie aufweisen als Schweine. Über Infektionen des Menschen nach Rinderkontakt geben folgende Literaturstellen Auskunft: REPORTS ON ZOONOSIS (1957), STEELE (1960), SCHNURRENBERGER et al. (1961), LAKATOS (1965), SILVERIE et al. (1968), SAKULA u. MOORE (1969), V. KNORRE (1969), CORBOULD (1971), DAVIDSON (1971).

3. Die transplacentare Infektion

Dieser Infektionsmodus gehört bei infizierten trächtigen Tieren zu einem der Leitsymptome. Es kommt meist zu Aborten bzw. zur Geburt lebensschwacher Jungtiere. Fälle transplacentarer Infektionen beim Menschen mit anschließendem Abort wurden von CHUNG et al. (1963) und COGHLAN u. BAIN (1969) beschrieben.

4. Die coitale Infektion

Die Berichte über die Möglichkeit der Übertragung von Leptospiren durch den Geschlechtsakt sind selten. 1932 berichtete DOELEMEN über einen Fall beim Menschen, bei dem ein genesender Mann seine Ehefrau wahrscheinlich mit *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* infizierte. Bis 1961, so schrieben SLEIGHT u. WILLIAMS (1961), war man in Bezug auf die Übertragung von Leptospiren durch

den Coitus auf Vermutungen angewiesen. 1961 konnten sie experimentell einen Bullen mit *L. p o m o n a* infizieren und die Erreger im Samen durch den Meerschweinchenversuch nachweisen. Die Proben waren während der 5 Wochen andauernden Phase der Leptospiurie positiv. 2 von 8 Färsen, die teilweise künstlich, teilweise aber auch durch den Bullen selbst besamt wurden, zeigten nach den Versuchen positive Titer gegen *L. p o m o n a*. DEGTJAREW (1963) konnte bei experimentell infizierten Ebern noch 120 Tage post infectionem im Hoden zahlreiche Erreger nachweisen. DEGTJAREW u. D'JACENKO (1972) berichteten, daß ein künstlich infizierter Eber Sauen durch den Deckakt infizierte.

5. Übertragung durch blutsaugende Insekten

KREPKOGORSKAIA et al. (1957) isolierten aus *Dermacentor marginatus*, einer bei Rindern vorkommenden Schildzeckenart, *L. g r i p p o t y p h o s a*. VAN DER HOEDEN (1958) konnte aus Zecken, die er auf einem Igel sammelte, *L. p o m o n a* isolieren. Das Wirtstier war Träger desselben Serotyps. Gesicherte Übertragungen konnten noch nicht nachgewiesen werden.

B. X. Möglichkeiten zur Herabsetzung der Infektions-
gefahr durch seuchen- und fleischhygienische
Maßnahmen

Das Problem der Bekämpfung und Prophylaxe dieser Zoonose liegt in der Schwierigkeit der Diagnostik, da es hierbei im Gegensatz zu vielen anderen Zoonosen sowohl beim Menschen als auch beim Tier zu keinen eigentlichen Leitsymptomen kommt. In der Literatur wurde oft von Fehldiagnosen beim Vorliegen von Leptospirosen berichtet.

REPLOH u. TRÜB (1953), HELMERT (1956) und FENSKE, E. u. FENSKE, G. (1969) teilten mit, daß beim Vorliegen klinischer Leptospirosen des Menschen unter anderem „grippaler Infekt, hochfieberhafter Infekt, unklare Fieberzustände, akute Nephritis, Pyelitis, Hepatitis epidemica, Bronchopneumonie, Magenacidität, Angina, Verschlußicterus, fieberhafter Allgemeininfekt usw.“ diagnostiziert wurden. Somit muß mit einer relativ hohen Dunkelziffer gerechnet werden. GRIEM u. OBERDOERSTER (1968) veröffentlichten, daß nur ca. 24% der von ihnen gesicherten Leptospirosefälle der staatlichen Hygieneinspektion der DDR gemeldet wurden. Es kommt also zum Faktor Fehldiagnosen auch noch das Unterlassen der Meldepflicht hinzu, so daß die Statistiken über Leptospirosen kein richtiges Bild vom wirklichen Seuchengeschehen vermitteln können.

Wirksame Prophylaxemaßnahmen zum Schutz des Endverbrauchers sollten nach GROSSKLAUS (1973) und STOLLE (1974) in der Vorverlegung der Schlacht tieruntersuchung in die Herkunftsbetriebe liegen. Hierzu gehört neben diagnostischen Maßnahmen auch die Beratung der Tierhalter über den Infektionsmodus und die wirksame Verhinderung der Ausbreitung von Leptospireninfektionen innerhalb der Bestände.

Zu diesen Maßnahmen gehört unter anderem:

- Eliminierung der Suhlen in der Schweinehaltung und
Trockenlegung der schlammigen Gebiete. (ALEXANDER et al., 1964)

- Hygienische Tränkwasseranlagen (HORSCH, 1968).
- Verhinderung des direkten oder indirekten Kontaktes zwischen den einzelnen Tiergruppen des Bestandes und des Kontaktes mit Wildtieren, insbesondere Nagern (ALEXANDER et al., 1964; KOLIEV et al., 1965).
- Tiere nur in den Bestand aufnehmen, die während einer Quarantänezeit von 2 Wochen serologisch negativ reagieren (ALEXANDER et al., 1964).
- Dekontamination von Exkreten, abortierten Feten und Eihäuten (ALEXANDER et al., 1964; MINZAT u. TOMESCU, 1975).
- Leptospirenfreie Watertiere bei der Besamung heranziehen (HORSCH, 1968).
- Systematische Schädlingsbekämpfung (HORSCH, 1968).
- Regelmäßige Stallreinigung und Desinfektion (HORSCH, 1968).
- Strenge Trennung zwischen Zucht- und Masttieren (HORSCH, 1968).
- Vakzinierung der gefährdeten Tiere mit Serotypen, die in der betreffenden Gegend vorkommen (KOLIEV et al., 1965; DEGTJAREV, 1965; HORSCH, 1968).
- Antibiotikatherapie und -prophylaxe erkrankter und gefährdeter Tiere mit Tetracyclinen (ENGELHARDT, 1969).

Zu den prophylaktischen Maßnahmen in der Fleischhygiene sollten gehören:

- Schlachthof-Rattenbekämpfung (HELMERT, 1956).
- Schnelle Entfernung und sicherer Verschluß der Schlachtabfälle (HELMERT, 1956).
- Abspülen der Arbeitstische mit desinfizierenden Flüssigkeiten, regelmäßige Hände- und Gerätedesinfektion (HELMERT, 1956).
- Schutzimpfung des Schlachthofpersonals (HELMERT, 1956).
- Aufklärung der Schlächter über berufliche Infektionsgefährdung (WOLFF u. KRÜGER, 1970).
- fließendes Wasser zur Reinigung von Händen und Arbeits-

geräten (FENSKE et al., 1969).

- Vermeidung des Kontaktes mit dem Harn der Schlachttiere (Anscheiden von Nieren, Entleerung der Harnblase) (FENSKE, E. u. FENSKE, G., 1969).
- Information der Schlachthöfe über leptospiroseverseuchte Bestände in deren Einzugsgebiet (FENSKE, E. u. FENSKE, G., 1969).
- Informierung der Betriebsärzte über die Exponierung des Schlachthofpersonals für Leptospirosen (WOLFF u. KRÜGER, 1970).
- Schlachtverbot bei festgestellter Leptospirose (festgestellt an Hand des Titerverlaufes oder durch direkten Erregernachweis) (BISPING et al., 1971).
- Nieren von Tieren, die an Leptospirose erkrankt sind oder waren oder aus verseuchten Beständen kommen, ohne Nachweis der Infektiosität unschädlich beseitigen (WEISE, 1969).

C. Eigene Untersuchungen

I. Material

Probematerial

Zur Gewinnung des frischen Probematerials wurde der M. longissimus dorsi frisch geschlachteter Schweine auf dem Schlacht- und Viehhof Berlin-Spandau mit sterilem Messer und desinfizierten Händen dem Tierkörper entnommen. Der Muskelstrang wurde noch am Ort mit einem Butangasbrenner oberflächlich abgeflammt und in einer Plastiktüte verpackt. Die oft noch warme Muskulatur wurde dann umgehend verarbeitet.

Die Nieren wurden gleich nach Eröffnung der Bauchhöhle mit der sie umgebenden capsula adiposa entnommen und in Plastiktüten verpackt.

Die Lymphknoten wurden frisch excenterierten Rindergeschlingen entnommen. Es handelte sich um die Lnn. bifurcationes, eparteriales und mediastinales caudd.

Geräte für Kontrollmessungen und Zerkleinerung des Ausgangsmaterials

Zur pH-Wert-Bestimmung diente bei allen Probematerialien ein elektrisches pH-Meter der Fa. Knick, Berlin 37.

Zur Bestimmung des Gehaltes an auspreßbarem Wasser diente ein Kompressorium, das unter dem Namen "Braunschweiger Gerät" (ROEMMELE et al., 1961) bekannt ist und Fließpapier der Fa. Schleicher und Schüll Nr. 1117.

Zwecks Homogenisierung für die Gesamtkeimzahlbestimmung wurden Muskulatur-, Nieren- und Lymphknotenproben vor der Inokulierung mit dem Ultra-Turrax der Fa. Jahnke und Kunkel, Staufen im Breisgau behandelt.

Die Zerkleinerung der Lymphknoten erfolgte nach Einfrieren in Trockeneis mit einem Haushaltmixgerät der Fa. Braun. Der Temperaturverlauf in den Proben wurde mit Pt 100 Meßfühlern und 6-Punktschreibern der Fa. Hartmann und

Braun, Berlin, kontrolliert.

Gefriervorgang

Das Einfrieren und Lagern der Proben erfolgte in zwei Gefriertruhen „Polaris 23“ der Fa. Linde, Sürth bei Köln, die mit zusätzlichen Regelthermostaten versehen waren und in einer Materialprüftruhe Typ VLM mit Festwertsteuerung der Fa. Vötsch, Frommern, Württ.

Inokulierung der Erreger

Die Inokulierung der Fleischwürfel und Nieren mit Leptospirenkulturen wurde mittels einer 10ml-Einmalspritze mit einer 60mm langen Kanüle durchgeführt. Zum Hackfleisch wurde die Kulturflüssigkeit mit einer 5ml-Pipette zugesetzt und mit einer sterilen Gabel verteilt. Ebenso wurde mit der Lymphknotenmasse verfahren.

Prüfstamm und Kulturmedien

Zur Inokulierung der Proben wurde ein Stamm L. p o m o n a aus der Sammlung des Robert von Ostertag Institutes des Bundesgesundheitsamtes ⁺⁾ verwendet. Zur Züchtung und Reisolierung wurde ein von OBIGER, 1974 abgewandeltes Kulturmedium nach Korthof verwendet, dessen Zusammensetzung und Herstellung wie folgt war:

3,6g Leptospirenbouillon nach Korthof (Basis) der Fa. Merck (Art. Nr. 5403) wurden in einem Liter demin. Wasser im Dampftopf gelöst, anschließend der pH-Wert auf 7,3 eingestellt und durch ein Faltenfilter klarfiltriert. Danach erfolgte eine zweimalige Sterilisation im Autoklaven (15 Min. bei 121⁰C). Nach Abkühlung des Basismediums wurden zur Kultivierung der Leptospiren 30ml Leptospira enrichment der Fa. Difco (Best. Nr. 0452-60) sowie 0,001g Vitamin B₁₂ der Fa. Merck (Best. Nr. 24592) und zur Reisolierung aus den Proben 40ml des „Leptospira enrichments“, 0,001g Vitamin B₁₂ und 100mg Fluorouracil der Fa. Hoffmann-la-Roche zugegeben.

Zur Gesamtkeimzahlbestimmung wurde Lebensmittelkeimzahlagar

⁺⁾ Herrn Prof.Dr. Obiger sei für die Überlassung des Stammes gedankt,

(ISO) der Fa. Merck (Art. Nr. 10231), für die Homogenisierung und Verdünnung „Drop“-Lösung (0,75g Agar-Agar, 8,5g NaCl, 1g Caseinpepton in 1l demin. Wasser bei 121°C 15 Minuten autoklavieren) benutzt.

II. Methodik

Die Dichte der Leptospirenkultur wurde im Dunkelfeld bei einer Vergrößerung von 1:250 nach der Methode von FRUNDER (1952), modifiziert von FUCHS (1958), abgeschätzt. Das Kulturröhrchen wurde kurz und kräftig aufgeschüttelt, eine Öse voll Kultur auf den Objektträger gebracht und ein Deckglaspräparat angefertigt. Dann wurde die Leptospirendichte geschätzt und wie folgt angegeben:

++++	=	einer Dichte von	90 - 100%
+++	=	" " "	70 - 90%
++	=	" " "	40 - 70%
+	=	" " "	20 - 40%

Die Prozentzahlen sind eine willkürliche Schätzung des jeweiligen Untersuchers und können daher von Autor zu Autor differieren. Nach FUCHS (1960) beträgt bei einer Dichte ++++ die Zellzahl der Kultur etwa $3,8 \times 10^7$ Leptospiren /ml. Die Zellzahl der hier untersuchten *L. pomona* betrug bei einer Vergrößerung von 1:250 optimal 8-12 Organismen pro Gesichtsfeld.

Vorbereitung des Prüfmaterials zur Inokulation:

Muskulatur: Der Muskelstrang wurde vor der Verarbeitung nochmals oberflächlich abgeflammt und mit entkeimtem Messer auf einer sterilen Unterlage in Würfel geschnitten. Die frischen Schnittflächen wurden nochmals abgeflammt.

Nieren: Die capsulae adiposa und fibrosa wurden von den Nieren unter sterilen Bedingungen abgelöst. Die Nieren wurden darauf oberflächlich abgeflammt.

Lymphknoten: Die Lymphknoten wurden vom umgebenden lockeren Binde- und Fettgewebe befreit und deren Oberflächen durch zweimaliges Abflammen weitgehend entkeimt und danach bei -40°C eingefroren. Kurz vor der Verarbeitung wurden sie mit fein zerkleinertem Trockeneis gemischt und im Mixer zerkleinert.

Hemmstofftest: Dieser wurde nach den Vorschriften der Anlage 4 zu § 20 AB.A bei Fleisch- und Nierenproben durchgeführt.

Bestimmung des Gehaltes an auspreßbarem Wasser: Es wurden ca. 0,3g Muskulatur aus dem Innern des Muskelstranges mit einer spitzen, gebogenen Schere entnommen und sofort in das „Braunschweiger Gerät“ verbracht. Die Ablesung erfolgte nach 5 Minuten. Ein wäbrig durchtränkter Hof mit einem mittleren Durchmesser bis 7mm wurde als normaler Wassergehalt bewertet. Lagen die Werte darüber, wurde das Fleisch als wäbrig beurteilt. In einem Fall mit einem Hofdurchmesser über 12mm wurde die Einstufung „stark wäbrig“ vorgenommen.

Gesamtkeimzahlbestimmung: Zur Gesamtkeimzahlbestimmung wurden 10g Prüfmaterial mit 90ml „Drop“-Lösung versetzt und mit dem Ultraturrax bei 20 000 U/Min. 15 Sekunden lang homogenisiert. Im Drop-Plating Verfahren wurde das Homogenisat auf die ISO-Agar-Platten gebracht und bei 37°C bebrütet (REUTER, 1968).

Inokulierung, Verpackung und Einfrieren der Proben:

Die Fleischwürfel wurden je nach Gewicht mit 2-3ml Kultur einer Dichte von ++++ beimpft. Die Injektion erfolgte durch leichten Druck auf den Stempel der Spritze unter gleichzeitigem langsamen Zurückziehen der Kanüle. Es wurden pro Fleischwürfel 4 Injektionen durchgeführt. Pro Niere wurden je nach Gewicht 5-7ml Kultur inokuliert. Der Lymphknotenmasse wie auch den Hackfleischproben wurden pro 10g 1ml zugegeben.

Die inokulierten Fleischwürfel und Hackfleischproben wurden in 25 x 20cm großen Aluminiumfolienblättern eingewickelt. Die Nieren wurden mit einem sterilen Messer in 6 - 7 Scheiben geschnitten und wie oben verpackt. Die Lymphknotenmasse wurde zu je 3-4g in Reagenzgläser verbracht.

Es wurden Einfriertemperaturen von -10°C , -20°C und -40°C angewendet. Die Lagerungstemperaturen waren identisch.

Untersuchung der eingefrorenen Proben:

Zunächst wurden im Abstand von 12 Stunden, später alle 24 Stunden pro Zeitabschnitt und Gefrierbereich je 2 Proben, also jeweils 6 Proben, entnommen. Die Fleisch- und Nierenproben wurden dabei je nach Lagerungstemperatur 5-10 Minuten bei Zimmertemperatur leicht angetaut. Mit einem Korkbohrer vom Durchmesser 8mm wurden bei den Muskelproben je 10 und bei den Nierenproben je 6 Teilproben ausgestanzt. Je 2 Teilproben wurden in einem Reagenzröhrchen mit 5ml Korthof-Basis bei 30°C 1 Stunde aufbewahrt. Anschließend wurde der Inhalt mit einem Whirl Mix gut durchgemischt, und jeweils 0,25ml des Gemisches wurden bei den Muskelproben auf insgesamt 10 und bei den Nierenproben auf insgesamt 6 Reagenzgläser pro aufgetaute Probe verteilt, die mit jeweils 3 ml der modifizierten Korthof-Nährlösung gefüllt waren. Pro Charge wurden 16 Tage bei den Muskelproben und 21 Tage lang bei den Nierenproben pro Tag und Gefrierbereich 2 Proben entnommen und verarbeitet.

Bei den Lymphknotenproben wurden den eingefrorenen Proben 10ml Korthof-Basis zugesetzt. Die Röhrchen wurden 1 Stunde bei 30°C gelagert und danach der Inhalt auf jeweils 5 Röhrchen mit Korthof-Nährlösung überimpft, indem jeweils eine Ösenfüllung auf die Kulturröhrchen gegeben wurde.

Die Bebrütung erfolgte bei 29°C , die mikroskopische Untersuchung nach 7, 14, 21, 28 und 42 Tagen unter dem Dunkelfeldmikroskop bei einer Vergrößerung von 1:100. Dabei wurden jedem Kulturröhrchen 3 Ösenfüllungen entnommen und getrennt untersucht.

Beurteilung der Prüfröhrchen:

Lebende Leptospiren wurden auf Grund ihrer Gestalt und ihrer typischen Eigenbewegung identifiziert.

Positiv wurde eine Probe beurteilt, wenn in wenigstens einem Kulturröhrchen bewegliche Leptospiren nachzuweisen waren. Wurden nach insgesamt 42-tägiger Bebrütung keine Leptospiren festgestellt, so wurde die Probe als negativ beurteilt.

Übersicht Methodik Nieren

Ausgangsmaterial:

Schweinenieren

Präparation und Kontrollen:

Entfernen der Kapseln

pH-Wert-Bestimmung

Hemmstofftest

Abflammen

Beimpfen mit L. p o m o n a - Kultur

Scheiben à 17 - 30g

Verpacken in Aluminium-Folie

Einteilung in Teilchargen und Einfrieren bei:

-10°C

-20°C

-40°C

tägliche Entnahme

2 Proben

2 Proben

2 Proben

Antauen bei 30°C

Entnahme von Teilproben mit Korkbohrern

2 x 6 Teilproben

2 x 6 Teilproben

2 x 6 Teilproben

Überimpfung in Korthof-Basis-Röhrchen (je 2 Teilpr./Röhrchen)

6 Röhrchen

6 Röhrchen

6 Röhrchen

1 Stunde bei 30°C tauen

gut durchmischen

Weiterimpfung der Aufschwemmung (je 0,25ml) auf je 2 Prüf-
röhrchen

12 Prüfröhrchen

12 Prüfröhrchen

12 Prüfröhrchen

Bebrütung bei 29°C

wöchentliche Kontrolle auf wachstum

Übersicht Methodik Muskulatur

Ausgangsmaterial:

M. longissimus dorsi (Schwein)

Präparation und Kontrollen:

Befreien von Fett und Bindegewebe

Wä Brigkeitsbestimmung (Braunschweiger Gerät)

pH-Wert-Bestimmung

Hemmstofftest

Würfel à 30 - 80g

Abflammen

Keimzahlbestimmung

Beimpfen mit L. p o m o n a - Kultur und Ver-
packen in Aluminium-Folie

Einteilung in Teilchargen und Einfrieren bei:

-10°C

-20°C

-40°C

tägliche Entnahme der Würfel

2 Proben

2 Proben

2 Proben

Antauen

Entnahme von Teilproben mit Korkbohrern

2 x 10 Teilproben 2 x 10 Teilproben 2 x 10 Teilproben

Überimpfung in Korthof-Basis-Röhrchen (je 2 Teilpr./Röhrchen)

10 Röhrchen

10 Röhrchen

10 Röhrchen

1 Stunde bei 30°C tauen

gut durchmischen

Weiterimpfung der Aufschwemmung (je 0,25ml) auf je 2 Prüf-
röhrchen

20 Prüfröhrchen

20 Prüfröhrchen

20 Prüfröhrchen

Bebrütung bei 29°C

wöchentliche Kontrolle auf Wachstum

Übersicht Methodik Lymphknoten

Ausgangsmaterial:

Lnn. bifurcationales, eparteriales und mediastinales (Rind)

Präparation und Kontrollen:

Befreien von Fett und Bindegewebe

Abflammen

bei -40°C einfrieren

mit Trockeneis vermischen

im Haushaltsmixer zu Staub verarbeiten

Auftauen bei 30°C

pH-Wert-Messung

Gesamtkeimzahlbestimmung

Beimpfen mit L. p o m o n a - Kultur

3 - 4g in Reagenzröhrchen

Einteilung in Teilchargen und Einfrieren bei:

-10°C

-20°C

-40°C

tägliche Entnahme

3 Proben

3 Proben

3 Proben

Zusatz von 3ml Korthof-Basis-Medium in jedes Röhrchen

1 Stunde auftauen bei 30°C

gut durchmischen

Stehen lassen (30 Min.) zum Absetzen der Lnn.-Partikel

Weiterimpfung der Aufschwemmung (je eine Ösenfüllung) auf je

5 Prüfröhrchen

15 Prüfröhrchen

15 Prüfröhrchen

15 Prüfröhrchen

Bebrütung bei 29°C

wöchentliche Kontrolle auf Wachstum

III. Ergebnisse

1. Methodische Erkenntnisse

Das verwendete Nährmedium (OBIGER, 1974) ersparte die Anwendung größerer Serummengen und erbrachte einen guten Wachstumserfolg mit dem Prüfstamm. Nach 6-10 Tagen konnten die höchsten Wachstumsdichten festgestellt werden, die nach 14 Tagen sichtlich abzunehmen begannen.

Die Entwicklung der Kulturen, die Dichte des Wachstums und die morphologische Beschaffenheit der Erreger waren vor der Inokulation bei allen Versuchsansätzen gleich, soweit dieses mikroskopisch kontrolliert werden konnte. Die Erreger zeigten eine gute Beweglichkeit, sie wiesen zum größten Teil die gleichen Längenabmessungen auf. Spontanagglutinationen, Entartungs- und Zerfallerscheinungen konnten nicht beobachtet werden, Fremdkeime waren nicht feststellbar.

Die Inokulation der Erreger in das Prüfmaterial gestaltete sich recht schwierig. Sowohl bei Nieren- als auch bei den Muskelproben konnte meist nicht vermieden werden, daß ein Teil der injizierten Kulturflüssigkeit wieder herauslief. Somit war eine genaue Abschätzung der inokulierten Leptospirenmenge nicht möglich. Bei den Lymphknotenproben entstand dieses Problem nicht. Versuche mit Hackfleisch, dem eine genau definierte Menge Kulturflüssigkeit einge-mischt werden konnte, erwiesen sich wegen stärker auftretender Verkeimungen als schwieriger durchzuführen. Nach drei Versuchsdurchgängen mit Hackfleisch wurde daher diese Methodik wieder aufgegeben.

Die angewandte Methodik der Reisolierung von Leptospiren erwies sich für die vorliegende Fragestellung als praktikabel. Zu diesem Resultat führten Vergleichsuntersuchungen mit der von HARTWICK und STOEBBE (1962) entwickelten Methodik. In Vorversuchen waren insgesamt drei Chargen zu je 10 Würfeln bei -40°C eingefroren und nach einem Tag

Lagerung wieder aufgetaut worden. Mit der in dieser Arbeit dann fortgesetzt angewendeten Methodik konnte aus allen Teilproben L. p o m o n a herausgezüchtet werden. Bei der anderen Methode nach HARTWIGK und STOEBBE, bei denen die Teilproben in den Nährröhrchen aufgetaut und bebrütet wurden, mißlang der Nachweis lebender Leptospiren immer. Die Anwendung des Selektivstoffes Fluorouracil in den Reisolierungsmedien in einer Konzentration von 100 mg/l hemmte die Entwicklung der Leptospiren nicht, konnte jedoch die zum Teil vorhandene Kontaminationsflora auch nicht unterdrücken. Versuche mit Konzentrationen bis zu 200 mg/l brachten keine Verbesserungen in dieser Hinsicht. Andere Selektivstoffe wurden wegen des erwarteten Arbeitsumfanges im Rahmen dieser Versuchsanstellungen nicht geprüft.

Die Zeitpunkte zum Nachweis lebender Erreger in den Prüfröhrchen konnten auf den 14., 28. und 42. Tag reduziert werden, nachdem vorher auch noch am 7. und 21. Tag geprüft worden war. Nur wenige Stunden eingefrorene Proben (Muskulatur) bzw. wenige Tage (Nieren) erbrachten oft schon am 14. Bebrütungstag positive Ergebnisse, während bei länger gelagerten Proben erst nach 28-tägiger Bebrütung der Prüfröhrchen einzelne Erreger zu finden waren.

2. Ergebnisse der Nierenversuche

Das Gewicht der Schweinenieren schwankte zwischen 74 und 215g, der arithmetische Mittelwert lag bei 128g.

Das Gewicht der Proben lag zwischen 15 und 36g. Ihre Verteilung ist aus der Tabelle 10 ersichtlich.

Der Hemmstofftest erbrachte bei allen untersuchten Nieren negative Ergebnisse.

Der Ausgangskeimgehalt betrug bei allen Chargen weniger als 10^2 Keime/g.

Die pH-Werte der Nieren schwankten zwischen 6,5 und 6,7. Detaillierte Angaben finden sich in der Tabelle 10.

Die Gefriertemperaturen im Kern wurden je nach Versuchsansatz nach unterschiedlicher Zeit erreicht: -10°C waren nach 8-9 Stunden, -20°C nach $6\frac{1}{2}$ - 7 Stunden und -40°C nach $\frac{3}{4}$ - 1 Stunde erreicht.

Das Überleben von L. p o m o n a in eingefrorenen Nierenproben ist in der Tabelle 10 ausführlich und in der Tabelle 11 zusammenfassend dargestellt. Die Medianwerte der Überlebenszeiten betrugen 11 Tage bei einer Lagerung bei -10°C und -20°C und 10 Tage bei -40°C . Die mittlere Hälfte betrug 10-12 Tage. Unter mittlerer Hälfte versteht man die Ergebnisse, die im Bereich zwischen dem 1. und 3. Quartil liegen. In allen Proben überlebten die Erreger eine 8-tägige Gefrierlagerung. Anschließend war ein kontinuierlicher Abfall bis zu einer Überlebensdauer von maximal 18 Tagen zu verzeichnen (Abb.I). Die Differenzen in der Überlebensrate zwischen den verschiedenen Gefriertemperaturen waren auffällig gering. Aus diesem Grunde wurden zur Darstellung des Kurvenverlaufes in der Abb. II nur die Werte der Versuchsreihe bei -20°C herangezogen.

Das Verhalten von L. p o m o n a in Nieren bei Kühlttemperaturen von $7,5^{\circ}\text{C}$ wurde parallel zu den Versuchsansätzen 3, 4, 5 und 6 geprüft. Die Kennwerte ergeben sich aus der Tabelle 10. Im einzelnen wurden folgende Überlebenszeiten ermittelt:

Vers. 3 : 8 Tage

Vers. 5 : 9 Tage

Vers. 4 : 6 Tage

Vers. 6 : 3 Tage

Die Ergebnisse wurden stark durch auftretende Sekundärverkeimungen beeinträchtigt, so daß die Gesamtüberlebensdauer nicht festgestellt werden konnte. Deshalb wurde bei späteren Chargen nur der Gefriereinfluß untersucht.

Tabelle 11

Überleben von L. p o m o n a in Nierenproben bei Gefrier-
lagerung

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
1	n.g.	10	10
2	11	11	11
3	12	12	12
4	9	9	8
5	10	10	10
6	11	10	10
7	13	13	12
8	13	13	12
9	11	11	10
10	9	9	10
11	11	10	10
12	12	12	11
13	12	12	12
14	16	18	16
15	8	8	8
16	14	14	14
17	8	8	8
auswertbare Chargen:	16	17	17

Überlebensdauer in Tagen:

Minimum	8	8	8
<u>Median</u>	11	11	11
Maximum	16	18	16
mittlere Hälfte	10-12	10-12	10-12

n.g. : nicht geprüft

Abb. I: Überlebensfähigkeit von *L. pomona* in Schweinenieren bei Temperaturen von -10, -20 und -40°C

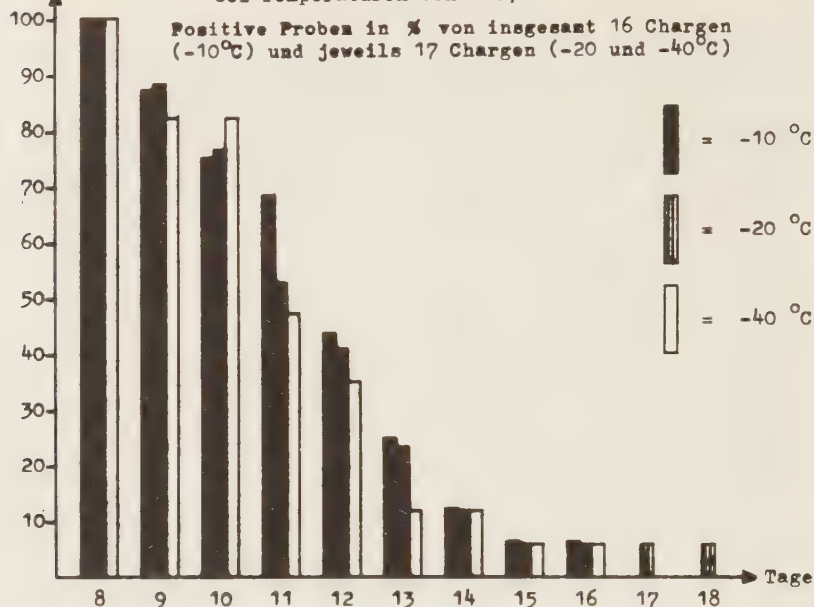
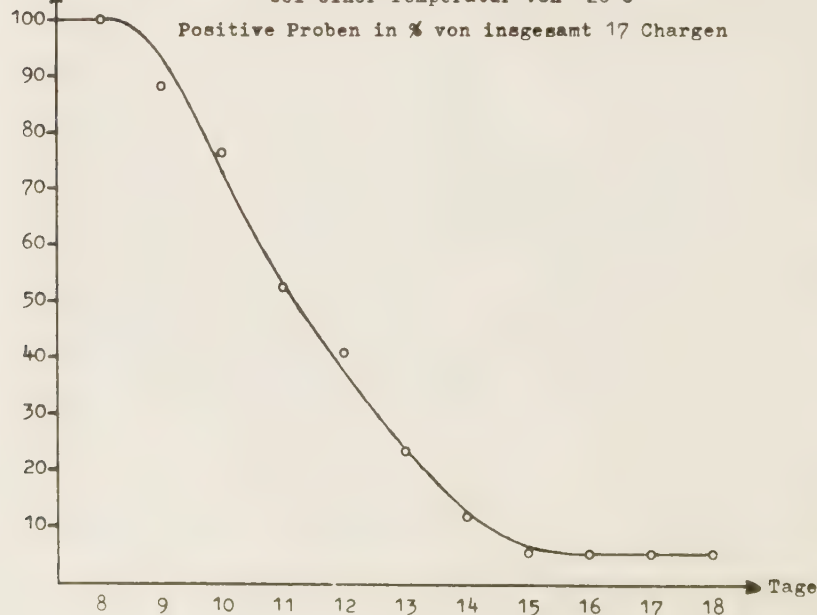


Abb. II: Überlebensfähigkeit von *L. pomona* in Schweinenieren bei einer Temperatur von -20°C



3. Ergebnisse der Muskulaturversuche

Das Gewicht der Proben lag zwischen 32 und 87g. Es wurde aus dem arithmetischen Mittel der Gewichte der Einzelproben ermittelt. Die Muskelwürfel mußten im weiteren Verlauf der Untersuchungen größer gewählt werden, weil sich sonst die Inokulation der Kulturflüssigkeit noch schwieriger gestaltet hätte. Detaillierte Angaben finden sich in der Tabelle 12. Die beiden auswertbaren Hackfleischchargen wiesen ein Probengewicht von jeweils 25g auf. Der Ausgangskeimgehalt wies Werte bis 4×10^2 /g Substrat auf, wobei weniger als 10^2 /g bei dem weitaus größten Teil der Proben vorlagen. Die Einzelwerte sind aus der Tabelle 12 ersichtlich.

Die Angaben über den Gehalt an auspreßbarem Wasser sind ebenfalls in der Tabelle 12 unter dem Begriff „Wäßrigkeit“ enthalten. Danach wiesen 12 Chargen einen normalen und 7 Chargen einen erhöhten Wassergehalt, davon eine einen extrem hohen, auf.

Der Hemmstofftest erbrachte bei allen untersuchten Muskelproben ein negatives Ergebnis.

Der Temperaturverlauf im Muskelprüfsubstrat in Proben mit einem Gewicht von 50g ist in der Abbildung III dargestellt. In den übrigen Proben kam es bei einer Temperatur von -10°C nach 9-11 Stunden zu der gewünschten Kerntemperatur, bei -20°C nach 6-8 Stunden und bei -40°C nach $1-1\frac{1}{2}$ Stunden. Im Bereich zwischen $-1,5^{\circ}\text{C}$ und $-3,5^{\circ}\text{C}$, der Gefrierphase der Muskulatur, kam es zu einer deutlichen Verzögerung des Temperaturabfalles.

Das Überleben von L. p_o m o_n a bei der Gefrierlagerung ist in der Tabelle 12 ausführlich dargestellt. Daraus ist ersichtlich, daß der verwendete Stamm je nach Versuchsan-satz unterschiedlich lange reisoliert werden konnte.

Angaben über pH-Werte, den Gehalt an auspreßbarem Wasser, den Ausgangskeimgehalt und das Probengewicht sind dort ebenfalls aufgeführt. In Tabelle 13 sind die Überlebens-

zeiten zusammenfassend dargestellt. Die Medianwerte betrugen 6,5 Tage bei -10°C und 6 Tage bei -20 und -40°C . Die minimale Überlebensdauer von 0,5 Tagen bei -10°C und 0 Tagen bei -20 und -40°C und die maximale Überlebensdauer von 14 Tagen in allen 3 Gefrierbereichen lassen eine erhebliche Streuungsbreite erkennen. Die mittlere Hälfte betrug bei -10°C 2-9 Tage, bei -20°C 3-8 Tage und bei -40°C 2-8 Tage. Die Zeitdauer der Überlebensfähigkeit der Leptospiren wurde in Abbildung IV prozentual nach positiven Proben veranschaulicht. Es zeigt sich, daß bei -10°C der Anteil positiver Proben zwischen 6 und 12 Tagen deutlich höher lag als bei den beiden anderen Prüftemperaturen. Für -20 und -40°C hingegen waren die Werte weitgehend übereinstimmend, so daß in Abbildung V ein mutmaßlicher Kurvenverlauf gezeichnet werden konnte.

In Abbildung VI wurde die Überlebensfähigkeit der Erreger in Beziehung zum pH-Wert der Muskelchargen zu setzen versucht. Dabei wurde die Angabe der Überlebensfähigkeit auf den jeweils höchsten Wert innerhalb der drei geprüften Temperaturbereiche beschränkt. Die pH-Werte wurden in Gruppen zusammengefaßt, wie sie bei der Beurteilung der Fleischqualität Anwendung finden. Im pH-Bereich zwischen 5,6 und 5,8, der einer normalen Säuerung entspricht, befanden sich 4 Chargen. Die Überlebenszeit betrug 2-7 Tage mit einem Medianwert von 2,5 Tagen. Im pH-Bereich zwischen 5,9 und 6,1, der einer verminderten Säuerung entspricht, lagen 9 Proben mit einer Überlebenszeit von 2-14 Tagen und einem Medianwert von 8 Tagen vor. Im Bereich zwischen $\text{pH} = 6,2$ und $7,3$ lag der Medianwert bei 4 Tagen. Um eine weitere Aussage zu ermöglichen, wurden in den 3 Gruppen Grenzwerte von 7 und 3 Tagen als Bezugspunkte für einen Vergleich benutzt. Die einzelnen Zahlenwerte sind im Diagramm enthalten. Aus den erhaltenen Werten ist zu ersehen, daß im Bereich von 5,9-6,1 die Erreger am längsten überlebten und nicht, wie erwartet, im Bereich, der näher am

Neutralpunkt lag. Der Bereich zwischen 5,6-5,8 erwies sich erwartungsgemäß als am ungünstigsten für das Überleben. Insgesamt waren jedoch zwischen den einzelnen Chargen noch größere Unterschiede zu verzeichnen. Aus diesem Grunde wurden weitere Auswertungen unter Berücksichtigung der geprüften oder durch Versuchsdurchführung entstandenen Faktoren durchgeführt.

In Tabelle 14 sind die Beziehungen zwischen der Überlebensdauer der Erreger und der Größe der Proben unter bzw. über 50g dargestellt. Insgesamt 6 bzw. 7 (bei -40°C) Chargen wiesen Probengewichte unter 50g auf. Die durchschnittlichen Zeitwerte (Mediane) dieser Untersuchungsreihen betrugen bei -10°C 1,5, bei -20°C 0,5 und bei -40°C 1 Tag. Bei den Chargen mit Probengewichten über 50g lagen durchschnittliche Überlebenszeiten von 8,5 (-10°C) bzw. 7,5 Tagen (-20 und -40°C) vor. Danach zeigten die schwereren Proben eine deutlich längere Überlebenszeit, was auch die Abbildung VII veranschaulicht. Die Abhängigkeit der Überlebensdauer von L. p o m o n a im Muskelgewebe vom Gehalt an auspreßbarem Wasser zeigt die Tabelle 15 und die Abbildung VIII. Insgesamt 8 bzw. 9 (bei -40°C) der Chargen wiesen einen erhöhten Wassergehalt auf. Die Überlebensdauer der Leptospiren war im Vergleich zu Chargen mit normalem Wassergehalt etwa um die Hälfte verringert. Die Abbildung VIII veranschaulicht dieses.

Es bestanden offensichtlich auch Zusammenhänge zwischen Ausgangskeimgehalt und Überlebenszeiten (Tabelle 16). Danach wiesen Proben mit einem höheren Ausgangskeimgehalt durchschnittlich niedrigere Medianwerte (0,5-1 Tag) auf als Chargen mit einem Ausgangskeimgehalt unter $10^2/\text{g}$, bei denen Medianwerte von 7,5-8 Tagen beobachtet wurden. Da es sich beim Vorkommen von höheren Ausgangskeimwerten als $10^2/\text{g}$ um methodische Fehler handelt, können diese Werte nicht mit zur Angabe der mittleren Überlebensdauer herangezogen werden. Die folgende Übersicht mit Gegenüberstellung der Werte bei Proben mit niedrigem und hohem

Keimgehalt zeigt dieses.

	Überlebenszeit (Tage)					
	$>10^2/g$			$<10^2/g$		
	-10°C	-20°C	-40°C	-10°C	-20°C	-40°C
Minimum	0,5	0	0	2	3	3
<u>Median</u>	1	0,5	1	8	7,5	7,5
<u>mittlere Hälfte</u>	1-2	0-2	0-2	6-10,5	6-9	6-10
Maximum	2	3	3	14	14	14

In den Tabellen 14-16 ist ausschließlich die mögliche Einwirkung der einzelnen wahrscheinlich negativen Einflußfaktoren ohne Berücksichtigung des gleichzeitigen Auftretens der übrigen Faktoren dargestellt. Im Gegensatz dazu werden in der Tabelle 17 für die durchgeführten Untersuchungen die Faktorenkombinationen erfaßt, die einen negativen Einfluß auf das Überleben der *Leptospira pomona* ausgeübt haben könnten.

Aus der Tabelle 17 ist ersichtlich, daß bei einem Fehlen der als negativ vermuteten Einflußfaktoren der Überlebensmedianwert für die untersuchten Erreger 9,25 Tage betrug. Bei Vorhandensein eines Faktors betrug dieser 5 Tage, bei 2 und 3 Faktoren jeweils 2 Tage. Bei der Charge Nr. 16, bei der alle 4 wahrscheinlich negativ auf die Überlebensdauer von *Leptospira pomona* wirkenden Faktoren zusammentrafen, konnte nur ein Überlebensmedian von 0 Tagen ermittelt werden.

Tabelle 13

Überleben von *L. p o m o n a* in Muskelproben bei Gefrier-
lagerung

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
1	n.g.	n.g.	2
2	1	0	1
3	2	2	1
5	0,5	0	1
6	1	1	1
7	n.g.	3	3
8	2	3	3
9	n.g.	6	6
10	10	9	9
11	7	6	6
12	10,5	10,5	10
13	8	7	7
14	14	14	14
15	12	12	11
16	2	0	0
17	11	8	8
19	6	6	6
20	3	3	3
21	4	4	3
22	9	9	10
23	8	8	8
auswertbare Chargen:	18	20	21

Überlebensdauer in Tagen:

Minimum	0,5	0	0
<u>Median</u>	6,5	6	6
Maximum	14	14	14
mittlere Hälfte	2-9	3-8	2-8

n.g. : nicht geprüft

Die Chargen Nr. 4 und 16 konnten wegen starker Verkeimung nicht ausgewertet werden.

- 87 -
Tabelle 14

Überleben von *L. p o m o n a* in Muskelproben in Abhängig-
keit vom Gewicht der Proben bei Gefrierlagerung

a. Portionierung der Proben unter 50g

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
1	n.g.	n.g.	2
2	1	0	1
5	0,5	0	1
6	1	1	1
16	2	0	0
20	3	3	3
21	4	4	3
auswertbare Chargen	6	6	7
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	0,5	0	0
Median	1,5	0,5	1
Maximum	4	4	3

b. Portionierung der Proben über 50g

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
3	2	2	1
7	n.g.	3	3
8	2	3	3
9	n.g.	6	6
10	10	9	9
11	7	6	6
12	10,5	10,5	10
13	8	7	7
14	14	14	14
15	12	12	11
17	11	8	8
19	6	6	6
22	9	9	10
23	8	8	8
auswertbare Chargen	12	14	14
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	2	2	1
Median	8,5	7,5	7,5
Maximum	14	14	14

n.g. : nicht geprüft

Tabelle 15

Überleben von *L. p o m o n a* in Muskelproben in Abhängigkeit von der Wässrigkeit des Fleisches bei Gefrierlagerung
a. erhöhter und stark erhöhter Wassergehalt ^{x)}

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
1	n.g.	n.g.	2
2	1	0	1
3	2	2	1
8	2	3	3
10	10	9	9
11	7	6	6
16	2	0	0
19	6	6	6
20	3	3	3
auswertbare Chargen	8	8	9
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	1	0	0
Median	2,5	3	3
Maximum	10	9	9

b. normaler Wassergehalt ^{x)}

Chargen Nr.	Ü b e r l e b e n s z e i t (T a g e)		
	-10°C	-20°C	-40°C
5	0,5	0	1
6	1	1	1
7	n.g.	3	3
9	n.g.	6	6
12	10,5	10,5	10
13	8	7	7
14	14	14	14
15	12	12	11
17	11	8	8
21	4	4	3
22	9	9	10
23	8	8	8
auswertbare Chargen	10	12	12
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	0,5	0	1
Median	8,5	7,5	7,5
Maximum	14	14	14

n.g. : nicht geprüft

x) : ermittelt mit der Kompressoriums-methode

Tabelle 16

Überleben von *L. p o m o n a* in Muskelproben in Abhängigkeit vom Ausgangskeimgehalt des Fleisches bei Gefrierlagerung

a. Über 10^2 Keime/g Muskulatur

Chargen Nr.	Überlebenszeit (Tage)		
	-10°C	-20°C	-40°C
1	n.g.	n.g.	2
2	1	0	1
3	2	2	1
5	0,5	0	1
6	1	1	1
7	n.g.	3	3
16	2	0	0
auswertbare Chargen	5	6	7
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	0,5	0	0
Median	1	0,5	1
Maximum	2	3	3

b. Weniger als 10^2 Keime/g Muskulatur

Chargen Nr.	Überlebenszeit (Tage)		
	-10°C	-20°C	-40°C
8	2	3	3
9	n.g.	6	6
10	10	9	9
11	7	6	6
12	10,5	10,5	10
13	8	7	7
14	14	14	14
15	12	12	11
17	11	8	8
19	6	6	6
20	3	3	3
21	4	4	3
22	9	9	10
23	8	8	8
auswertbare Chargen	13	14	14
<u>Überlebensdauer in Tagen:</u>			
Minimum	2	3	3
Median	8	7,5	7,5
Maximum	14	14	14

n.g. : nicht geprüft

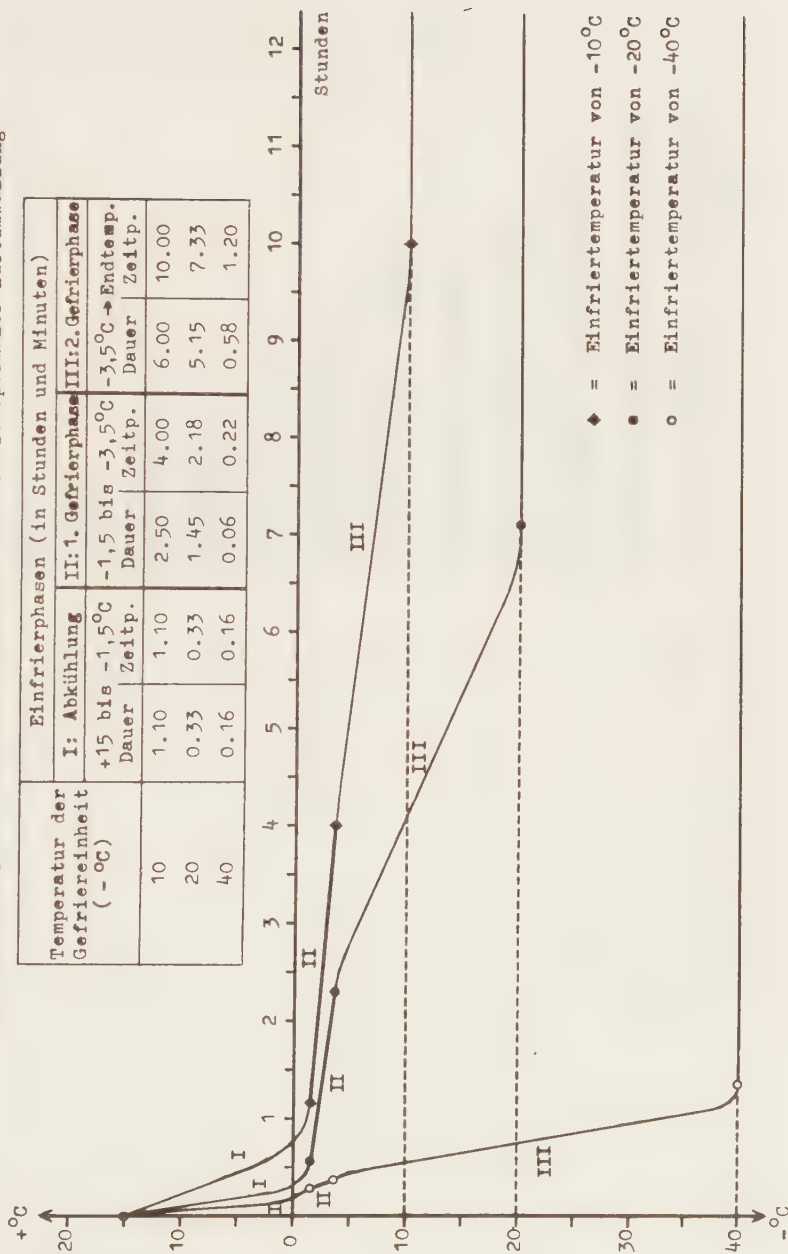
Tabelle 17

Zusammenstellung der die Überlebensdauer beim Einfrierprozeß wahrscheinlich negativ beeinflussenden Faktoren und ihre Verteilung auf die einzelnen Chargen

Charge Nr.	pH-Bereich 5,6-5,8	Ausgangskeim- gehalt $>10^2/g$	Probege- wicht $<50g$	erhöhter Wasser- gehalt	Überleben in Tagen ^{*)}	Minimum, Median Maximum (Tage)
9	-	-	-	-	6	Min.: 6
12	-	-	-	-	10,5	Med.: 9,25
13	-	-	-	-	7	Max.: 14
14	-	-	-	-	14	
15	-	-	-	-	12	
17	-	-	-	-	8	
7	-	+	-	-	3	Min.: 3
10	-	-	-	+	9	Med.: 5
19	-	-	-	+	6	Max.: 9
21	-	-	+	-	4	
3	-	+	-	+	2	Min.: 0,5
5	-	+	+	-	0,5	Med.: 2
6	-	+	+	-	1	Max.: 6
8	+	-	-	+	3	
11	+	-	-	+	6	
1	-	+	+	+	2	Min.: 1
2	-	+	+	+	1	Med.: 2
20	+	-	+	+	3	Max.: 3
16	+	+	+	+	0	

^{*)} Median aus -10, -20 und -40°C (3 Versuchsserien)

Abb. III: Temperaturverlauf im Kern von Schweinefleischproben (50 g Gewicht, in Aluminium-Folie verpackt) bei Einfriertemperaturen von -10°C und -20°C in handelsüblichen Gefriertruhen ohne ausreichende Luftumwälzung und im Klimasimulator bei -40°C mit optimaler Luftumwälzung



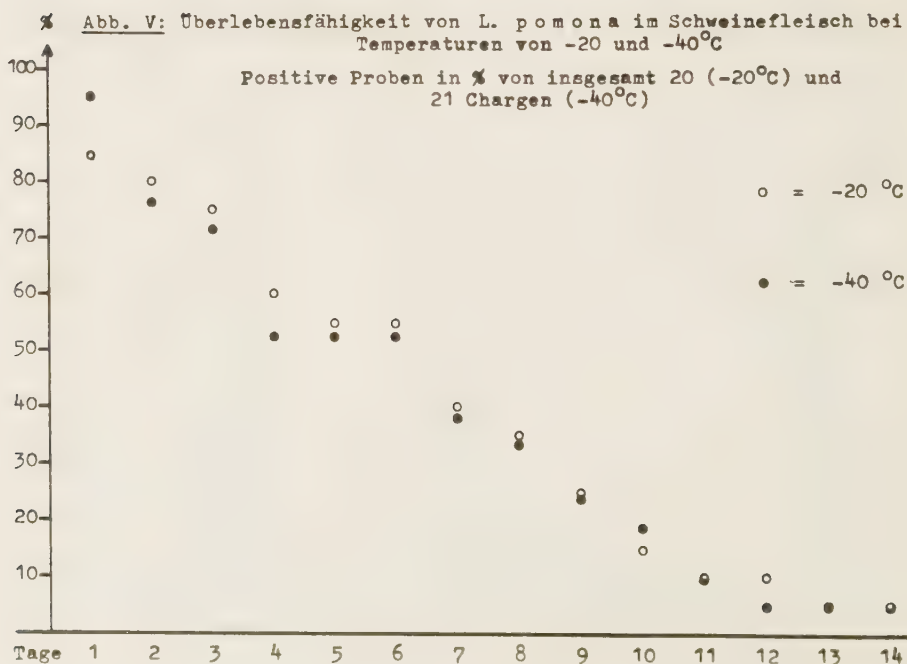
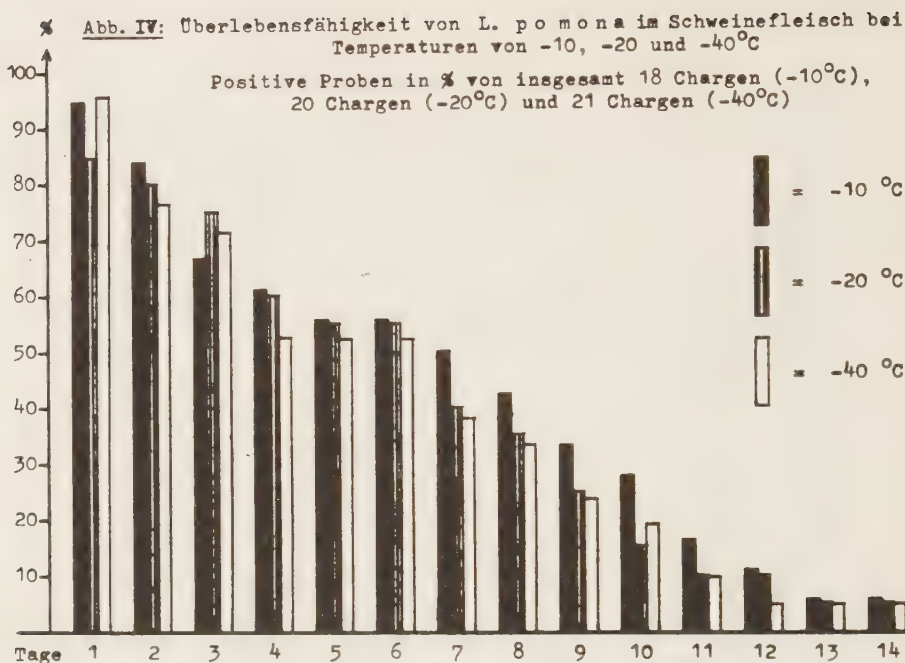
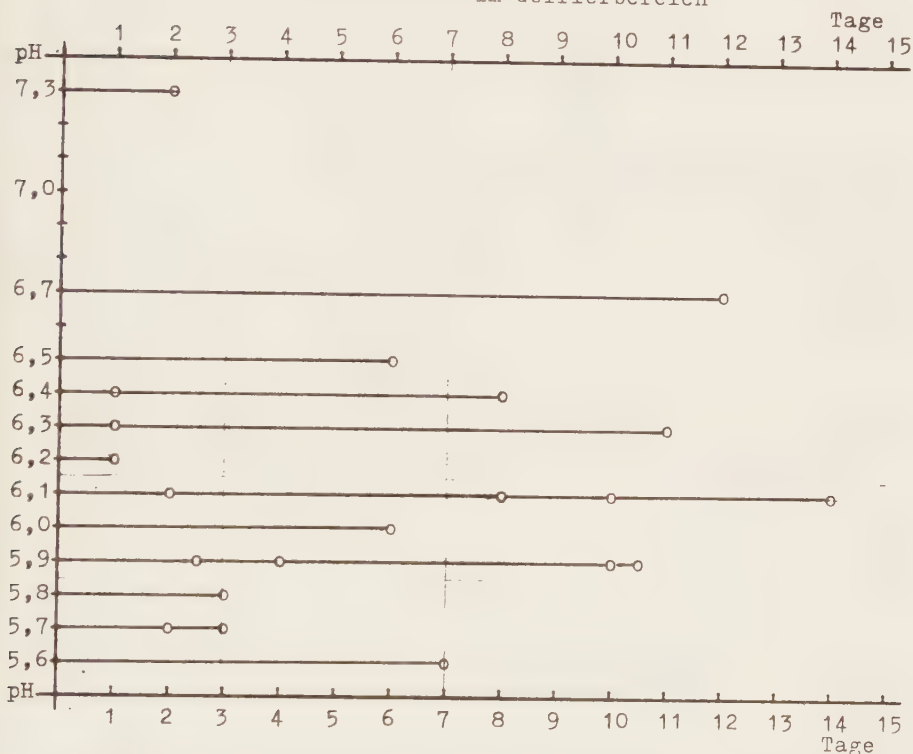


Abbildung VI pH-Werte der Schweinefleischchargen vor der Inokulierung, in Abhängigkeit von der Überlebensdauer (in Tagen) bei *L. pomona* im Gefrierbereich



Häufigkeiten der Überlebenszeiten aufgegliedert in pH-Bereiche:

Tage	pH - Bereiche		
	5,6-5,8	5,9-6,1	6,2-7,3
1-3	3	2	4
4-6	0	2	1
≥7	1	5	3

Abbildung VII Korrelation der Überlebenszeit von L. p o m a in gefrorenem
Schweinefleisch mit dem Gewicht der Einzelproben

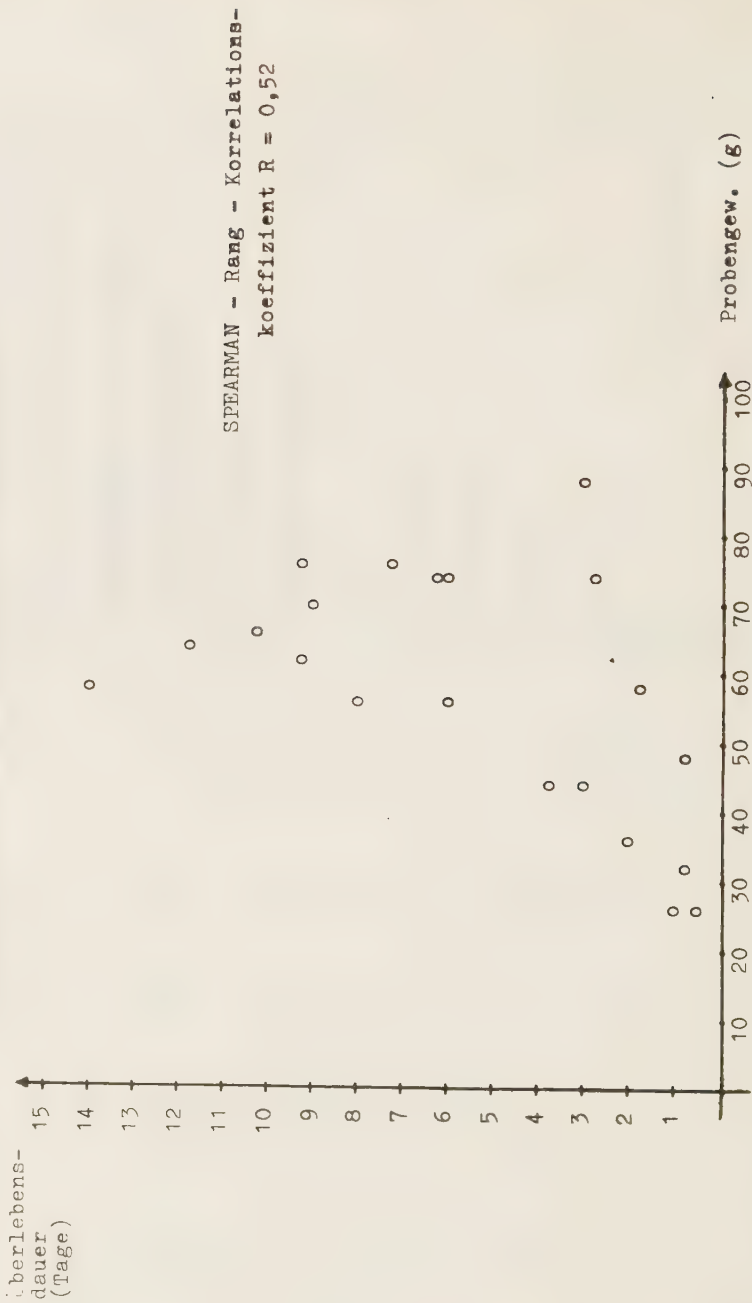
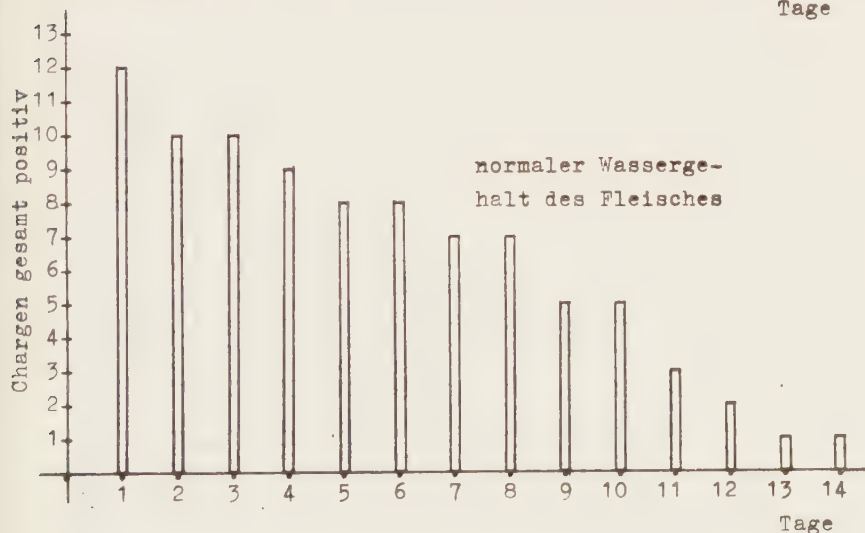
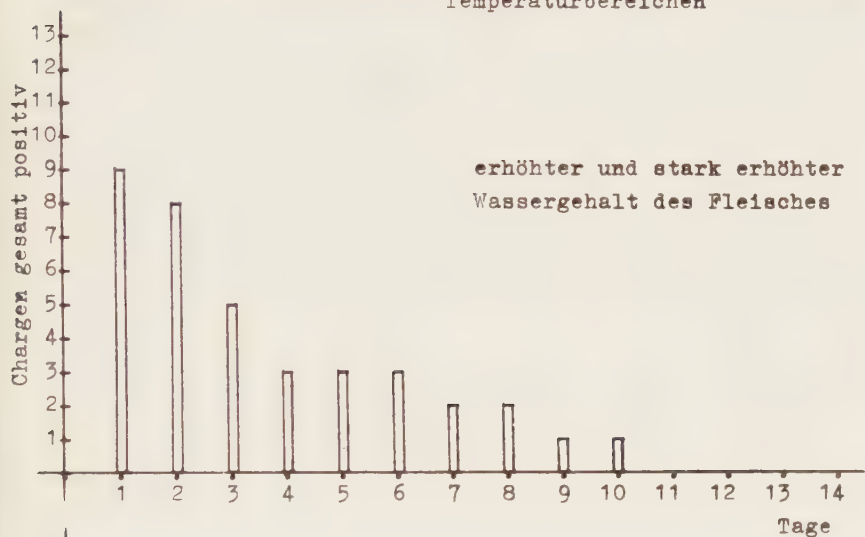


Abbildung VIII Der Einfluß der Wäſrigkeit des Fleiſches
auf die Überlebensdauer von *L. p o m o n a*
in gefrorenem Schweinefleisch (jeweils die
höchste Überlebenszeit in den 3 verwendeten
Temperaturbereichen



4. Ergebnisse der Lymphknotenversuche

Das homogenisierte Lymphknotenmaterial wies einen Ausgangs-
keimgehalt zwischen 8×10^3 und 2×10^5 Keimen/g auf. Es
wurden insgesamt sechs Versuchsreihen angesetzt, deren Aus-
gangskeimgehalte sich wie folgt verteilen:

Vers. 1 : $2,5 \times 10^4$ /g

Vers. 4 : $3,6 \times 10^4$ /g

Vers. 2 : $2,4 \times 10^4$ /g

Vers. 5 : $8,0 \times 10^3$ /g

Vers. 3 : $1,5 \times 10^5$ /g

Vers. 6 : $3,0 \times 10^4$ /g

Der pH-Wert der Lymphknotenmasse betrug zwischen 6,6 und
6,8.

In den insgesamt 224 Einzelproben der 6 Versuchsreihen
konnten wegen Verkeimung der Prüfröhrchen keine Lepto-
spiren mikroskopisch nachgewiesen werden.

D. Diskussion der Ergebnisse

Das Arbeiten mit Erregern, die dem Genus *Leptospira* angehören, ist problematisch und sehr arbeitsaufwendig, da sie hochempfindlich gegen äußere Einflüsse sind. Eine sichere Anzüchtung des vorliegenden Stammes war nur in flüssigen Medien gegeben. Auf festen Nährböden, wie z.B. einem Korthofnährmedium, dem 1,5% Agar-Agar zugesetzt worden war, kam es nur vereinzelt zu einem Anwachsen der Kultur. Da nur ein optimales Medium den durch Gefrierereinflüsse in ihrer Lebens- und Vermehrungsfähigkeit geschädigten Keimen ein Wachstum ermöglichte, mußte in diesen Versuchen auf das bewährte flüssige Medium zurückgegriffen werden.

Der Nachteil dieser Methodik bestand darin, daß keine Aussage über den Anteil der durch den Gefrierprozeß abgetöteten Keime im Prüfsubstrat zu treffen war. Es konnte allerdings aus der unterschiedlichen Bebrütungsdauer bis zum ersten Nachweis lebender Keime ersehen werden, daß der vorliegende Stamm mit zunehmender Gefrierlagerungsdauer sowohl in Nieren als auch in Muskulatur stärker geschädigt wurde. Da eine quantitative Definition der Verminderung der Leptospiren nicht möglich war und bei der Inokulation nicht genau definierte Mengen Leptospirenkultur injiziert werden konnten, erschien die von FRUNDER (1952) entwickelte Methode zur Abschätzung der Leptospirendichte als ausreichend. Für andere Fragestellungen kann diese Methode nicht immer befriedigen, da sie recht ungenau ist. Es wird hier auf die Arbeiten von ZIPPLIES (1958), ELLINGHAUSEN (1959) und CRAWFORD et al. (1971) verwiesen, die sich eingehender mit der Leptospirenzählung beschäftigt haben.

Die Anwendung von Aufschwemmungen des Prüfmateri als in Korthof-Basis-Medium ohne Homogenisierung erschien innerhalb dieser Versuchsanordnung aus folgenden Gründen besser und aussichtsreicher: 1.) Es kommt dabei zu einem geringen

Übergang von Gewebsteilchen in die Nährbouillon. Lytisches Gewebe aber übt nach HORSCH (1965) und WEISE (1969) einen negativen Einfluß auf die Entwicklung der Leptospiren aus. Auch YANAGAWA et al. (1963) und ALEXANDER (1964) hatten festgestellt, daß sich Leptospiren nur in Gewebssuspensionen höherer Verdünnung züchten lassen. Dies würde eine hohe Konzentration im Ausgangsmaterial voraussetzen, was bei den hier untersuchten Gefrierproben nicht mehr gegeben war. 2.) Durch die bei der Homogenisation notwendigen Manipulationen ist die Gefahr größer, daß es zu Fremdverkeimungen kommt. 3.) Durch die zerschlagende Wirkung der Homogenisatoren ist nicht auszuschließen, daß ein Teil der Erreger, die zu einem gewissen Grade sublethal geschädigt sind, zerstört werden.

Auftretende Sekundärkeime beim Arbeiten mit Leptospiren sind ein weiteres großes Problem, das die Auswertung ganzer Versuchsreihen unmöglich machen kann. Infolge der langsamen Generationsfolge der Leptospiren werden sie bei Vorhandensein anderer Bakterien in kurzer Zeit überwuchert, so daß sie mikroskopisch nicht zu erfassen sind. Ab einem Sekundärkeimgehalt von 8×10^2 /g im Ausgangsmaterial konnten bei der in dieser Arbeit angewandten Methodik dementsprechend auch keine Leptospiren mehr nachgewiesen werden. Diese Grenzkonzentration kann allerdings nicht als allgemein gültig angesehen werden. Sie ist abhängig von der Sekundärkeimspezies und deren Empfindlichkeit gegenüber Fluorouracil (FU), das als Selektivum verwendet wurde. Die im Rahmen dieser Arbeit aus dem Fleisch isolierten Sekundärkeime bestanden größtenteils aus *Serratia marcescens*, Staphylokokken, Streptokokken und Coliformen. Coliforme und insbesondere *Serratia marcescens* konnten aus dem FU-haltigen Nährmedium isoliert werden, das sie zum Teil völlig trübten. In Bezug auf die Unempfindlichkeit von Coliformen Keimen gegenüber FU konnten also die Berichte von BISPING et al. (1971) bestätigt werden. Streptokokken und Staphylokokken konnten von mir aus dem

FU-haltigen Nährmedium nicht reisoliert werden.

Die Ergebnisse bei der Überprüfung der Überlebensfähigkeit von L. p_o_m_o_n_a in gefrorener Muskulatur wiesen große Unterschiede auf, obwohl die Methodik während des ganzen Versuches keine Änderung erfahren hatte. Bei den Nierenversuchen kam es nicht zu einer derartigen Streuung der Ergebnisse. Die Ursache muß daher im Substrat Muskulatur gelegen haben. Folgende Ursachen könnten dafür in Betracht gezogen werden: die unterschiedlichen pH-Werte des Fleisches, der unterschiedliche Fettgehalt der Muskulatur, die unterschiedliche Wäßrigkeit des Fleisches, im Fleisch enthaltene Hemmstoffe, unterschiedliche Kulturentwicklung der Leptospiren, verschiedene Größen der eingefrorenen Fleischproben, unterschiedliche Temperaturentwicklungen in den Fleischproben sowie unterschiedliche Ausgangskeimgehalte der Muskulatur. Von diesen 8 möglichen Einflußfaktoren konnten Hemmstoffe durch entsprechend Nachweisverfahren ausgeschlossen werden, unterschiedlicher Fettgehalt in der Muskulatur, der eine unterschiedliche protektive Wirkung auf die Mikroorganismen ausüben könnte, vernachlässigt werden, da immer der gleiche Muskelstrang (M. lonissimus dorsi) für die Versuchsansätze benutzt wurde und die Tierkörper zur gleichen Kategorie junger Mastschweine gehörten. Eine veränderte kulturelle Entwicklung der Leptospiren machte sich morphologisch nicht bemerkbar.

Eine mögliche Abhängigkeit des Überlebens im Substrat vom pH-Wert und dem Ausgangskeimgehalt der Muskulatur, der Wäßrigkeit des Fleisches und der Probengröße ist dagegen nicht auszuschließen. Dabei haben die Probengröße und der Ausgangskeimgehalt des Prüfsubstrates anscheinend die bedeutendste Rolle gespielt.

Je kleiner die Proben dimensioniert waren, um so geringer war die Überlebensrate. Dieses könnte im schnelleren Temperaturabfall bis zum Kern der Proben gelegen haben. Eine Reihe von Autoren konnte feststellen, daß bei rascherem

Einfrierprozeß, der ja bei kleineren Proben zwangsläufig erfolgte, es zu einer schnelleren Abtötung der Keimflora in Lebensmitteln kam als beim langsamen Einfrieren (SCHMIDT-LORENZ, 1974). Eine Definition für „schnelles Einfrieren“ gibt SCHMIDT-LORENZ in seiner Arbeit nicht an. Nach RIEMER (1976) kann erst von einem schnellen Einfrieren im mikrobiologischen Sinne bei einem Temperaturabfall von mehr als $1^{\circ}\text{C}/\text{Min.}$ im Substrat gesprochen werden. Dies war in dieser Arbeit in den 3 angewandten Temperaturbereichen nicht gegeben. Es ist auch recht unwahrscheinlich, daß diese Aussagen für Leptospiren übernommen werden können, da sich diese Erreger im Hinblick auf ihre Tenazität anders verhalten als die übrigen Bakterienspezies. Die Ursache der verringerten Überlebensrate könnte auch in der geringeren Inokulationsmenge bei leichteren Proben gelegen haben. Größere Fleischwürfel konnten bedeutend besser mit Leptospirenbouillon beimpft werden. Die Menge Kulturflüssigkeit, die bei der Inokulation der größeren Proben wieder herauslief, war bedeutend geringer. Über den Einfluß einer geringeren Inokulationsmenge im Verhältnis zum Prüfsubstrat könnten Hackfleischversuche Aufschlüsse geben. Bei den hier vorliegenden Versuchen mit zerkleinertem Fleisch, dem eine definiert große Menge Leptospirenbouillon eingeimpft werden konnte, können jedoch diesbezüglich keine Schlüsse gezogen werden, da sie einen höheren Ausgangskeimgehalt aufwiesen als die anderen Proben (Muskelwürfel). Wahrscheinlich ist der Fremdkeimgehalt die wesentlichste Ursache unterschiedlicher Überlebensraten gewesen. Da es sich dabei jedoch um einen Faktor handelt, der durch labormäßige Behandlung der Proben verstärkt wurde, sind Schlüsse auf das Verhalten von *L. pomona* im geschlachteten Tierkörper nur mit großer Vorsicht zu ziehen. Die bevorzugte Berücksichtigung von Proben, die einen niedrigen Ausgangskeimgehalt ($<10^2/\text{g}$) hatten, ist für die hier vorgelegte Fragestellung angezeigt. Die

entsprechende Auswertung ergab auch eine eindeutig längere Überlebenszeit. Diese müßte daher stärker gewichtet werden und als die eigentliche Aussage der Gefrierversuche angesehen werden.

Der Einflußfaktor „Wäßrigkeit des Fleisches“ hat in diesen Untersuchungen ebenfalls eine Rolle gespielt. So waren in wäßrigen Proben die Überlebenszeiten der Leptospiren deutlich verringert. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß dieses an der geringeren Inokulationsmenge gelegen haben kann. Wäßriges Fleisch kann in geringeren Mengen zusätzliche Flüssigkeit aufnehmen als normales.

In den 3 pH-Bereichen konnten sehr verschiedene Überlebenszeiten für *L. p o m o n a* beobachtet werden. Dabei erwies sich, wie erwartet, der pH-Bereich von 5,6-5,8 als am ungünstigsten. Dies steht in Übereinstimmung mit verschiedenen anderen Autoren, die sich mit dem Überleben von Leptospiren im sauren Bereich beschäftigten. Im pH-Bereich zwischen 5,9-6,1 war jedoch die Überlebensdauer gegenüber dem Bereich zwischen 6,2-7,3 um das Doppelte verlängert. Dies ist zunächst unverständlich, da der pH-Bereich zwischen 6,2-7,3 dem pH-Optimum für Leptospiren von 7,2 am nächsten kommt. Vergleicht man jedoch die Anzahl der Chargen, die einen höheren Ausgangskeimgehalt als $10^2/g$ in diesen beiden Bereichen aufwiesen, so kann festgestellt werden, daß sich im pH-Bereich zwischen 5,9-6,1 zwei, im pH-Bereich zwischen 6,2-7,3 dagegen 4 Chargen mit einem höheren Ausgangskeimgehalt befanden. Da bei den stärker keimhaltigen Chargen eine geringere Überlebenszeit für *L. p o m o n a* festgestellt werden konnte, kann vermutet werden, daß die 4 Chargen im pH-Bereich zwischen 6,2-7,3 den Medianwert der Überlebenszeit von *L. p o m o n a* stark vermindert haben.

Das Zusammenspiel verschiedener Faktoren und deren Auswirkungen ist bei der geringen Anzahl der Chargen nur schwer zu erkennen. Es scheint das Zusammentreffen eines hohen Ausgangskeimgehaltes und eines geringen Probengewichtes, wie es in den Chargen 1, 2, 5, 6 und 16 der Fall

war, die Überlebensraten am ungünstigsten beeinflusst zu haben. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Charge Nr. 16. Hier kamen alle 4 in dieser Arbeit als wesentlich erkannten Faktoren, die die Überlebensrate negativ beeinflussten, zusammen. In dieser Charge konnten nur bei einer Gefrier- und Lagerungstemperatur von -10°C lebensfähige Leptospiren reisoliert werden.

Um die Bedeutung jedes einzelnen Faktors endgültig festlegen zu können, hätten wesentlich mehr Versuchsdurchgänge durchgeführt werden müssen. Dieses konnte im Rahmen dieser Arbeit wegen des großen Arbeitsaufwandes nicht verwirklicht werden, da die Kapazitäten eines normalen mikrobiologischen Labors bei einer Bebrütungszeit von mindestens 30 Tagen und einer so großen Anzahl von Proben schnell erreicht sind.

Die Medianwerte für das Überleben von L. p o m o n a in gefrorener Muskulatur lagen in allen 3 Gefrierbereichen bei 6-6,5 Tagen. Es ist somit davon auszugehen, daß die Temperaturen, bei denen die Proben eingefroren und gelagert wurden, keinen nennenswerten Einfluß ausübten. Bei 9 Chargen kam es jedoch bei einer Temperatur von -10°C zu einer längeren Überlebensphase als bei einer Temperatur von -40°C . Werden nur Proben mit einem niedrigen Ausgangskeimgehalt berücksichtigt, so kann man von Medianwerten des Überlebens von L. p o m o n a in Gefrierfleisch von 7,5-8 Tagen ausgehen, wobei das Maximum des Überlebens bei 14 Tagen lag.

Mit der Überlebensfähigkeit von Leptospiren in gefrorener Muskulatur beschäftigten sich zuvor schon KOTOWA (1955), ZURECK (1960), MÜNKER (1963) und OBIGER u. SCHÖNBERG (1972). Die Originalarbeit von KOTOWA (1955) war nicht erreichbar, es mußte auf zitierte Ergebnisse zurückgegriffen werden, die nicht auf die verwendete Serogruppe eingingen. Die Erreger überlebten in künstlich infizierten Zieseln, die nach der Tötung bei -10 bis -20°C eingefroren wurden, eine Lagerung von 10 Tagen nicht. Der Nachweis erfolgte durch

Verfütterung dieser Tierkörper an weitere Ziesel. ZURECK (1960) und MÜNKER (1963) gaben in ihren Arbeiten weder die verwendete Serogruppe noch ihre Versuchsbedingungen an. OBIGER u. SCHÖNBERG (1972) inokulierten Schabefleisch mit Leptospirenkulturen, froren das Fleisch bei -7°C ein und stellten fest, daß es nach Erreichen der Kerntemperatur von -7°C zu einer Überlebensdauer von 2 Stunden kam. Über die verwendete Serogruppe, die Anzahl der Versuche, den Temperaturverlauf und die Methodik der Reisolierung finden sich in dieser Arbeit jedoch keine Angaben. Es kann somit festgestellt werden, daß sich bisher nur ungenaue Angaben über das Überleben von Leptospiren in Gefrierfleisch finden. Es wurde in dieser Arbeit gezeigt, daß Pauschalierungen über die Überlebensfähigkeit von Leptospiren im Fleisch sicher nicht angebracht sind, sondern, daß sie von mindestens 4 verschiedenen Faktoren abhängig ist und erhebliche Differenzen aufweist. Ferner kann in diesem Zusammenhang nicht von der Überlebensfähigkeit der Leptospiren im allgemeinen berichtet werden, wenn möglicherweise nur eine Serogruppe zu ihrer Überprüfung herangezogen wurde. So wiesen MONLUX (1948) und COGHLAN et al. (1967) in ihren Versuchen unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Gefriertemperaturen bei einzelnen Sero-
gruppen nach.

Um eine allgemein verbindliche Aussage über das Verhalten der Erreger im Fleisch bei Gefriertemperaturen zu treffen, müßten noch Paralleluntersuchungen mit mehreren Sero-
gruppen durchgeführt werden. Dieses war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Sie liefert jedoch die Basis für entsprechendes Vorgehen.

In den hier vorliegenden Untersuchungen konnten für L. p o m o n a in der Muskulatur bei Kühllagerung Überlebenszeiten bis zu 5 Tagen festgestellt werden. Die Ergebnisse wurden stark durch die sich entwickelnde Kontaminationsflora beeinträchtigt, so daß die eigentliche Überlebenszeit länger anzusetzen wäre.

Untersuchungen mit einer ähnlichen Methodik führten OBIGER u. SCHÖNBERG (1972) durch. Bei Hackfleischversuchen mit einem Fleisch-pH-Wert von 5,5 konnten die Erreger im Kühlschrank nur 7 Stunden überleben. Bei diesen Untersuchungen fehlten die Angabe der Serogruppe, der Anzahl der Versuche und der Reisolierungsmethodik. Immerhin weisen die erreichten Werte von 5 Tagen und 7 Stunden eine beachtliche Divergenz auf, so daß über das Verhalten bei Kühl Lagerung weitere gezielte Untersuchungen notwendig sind, um die verschiedenen Einflüsse abzuklären und pauschalierende Angaben ohne gesicherte Erkenntnisse zu verwerfen. Bei Kühl Lagerungsversuchen muß auf steriles Arbeiten besonderen Wert gelegt werden, da sich die Kontaminationsflora bei Kühlschranktemperaturen beträchtlich vermehren kann. Reisolierungsversuche erfordern wirksame selektive Medien.

In eingefrorenen künstlich infizierten Nieren konnten in den hier beschriebenen Untersuchungen für *L. pomona* Überlebenszeiten von 11 Tagen bei einer Temperatur von -10°C und -20°C und 10 Tagen bei -40°C festgestellt werden. Die angegebenen Zeiträume sind Medianwerte. Die maximale Überlebensdauer betrug bei -10 und -40°C 16 Tage, bei -20°C sogar 18 Tage. In der Literatur finden sich Angaben von WEISE (1970), der eine ähnliche Methodik anwandte. Er inokulierte Rinder- und Schweinenieren mit Kulturen von *L. icterohaemorrhagiae*, fror und lagerte sie bei -18°C . Er wies eine Überlebenszeit der Erreger bis zu 3 Tagen nach. Der Nachweis erfolgte zum Teil durch Überimpfung von Gewebsaufschwemmungen, zum Teil durch Überimpfung von zerkleinerten Nierengewebs teilen. Die Prüfröhrchen enthielten ein mit 8,9% Kaninchenserum angereichertes Korthof-Medium. Die von WEISE festgestellten Überlebenszeiten lagen also in allen Fällen weit unter denen, die in dieser Arbeit für *L. pomona* ermittelt wurden. Dies könnte folgende Ursachen haben: 1.) Unterschiedliche Empfindlichkeit der

untersuchten Serogruppe. 2.) Unterschiedliche Anzahl von beschickten Prüfröhrchen. 3.) Unterschiedlich lange Bebrütungsdauer der Prüfröhrchen zum Nachweis lebender Erreger. 4.) Unterschiedliche Menge überimpfter Gewebsaufschwemmung in die Prüfröhrchen. 5.) Unterschiedliche Menge der inokulierten Kulturflüssigkeit in den Nieren.

Angaben über eine unterschiedliche Gefrierempfindlichkeit der beiden benutzten Serogruppen konnten in der Literatur nicht gefunden werden, so daß eine Erklärung für die Diskrepanz aus der Sicht der Stamm- oder Serogruppenbeschaffenheit nicht gegeben werden kann. WEISE beschickte nur 2 Prüfröhrchen je Probe mit einer Nierengewebsaufschwemmung, bei den hier durchgeführten Untersuchungen waren es 6, wobei an jedem Gefrierlagerungstag jeder Charge eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde, also für jeden Temperaturbereich jeder Charge an jedem Tag je 12 Röhrchen mit Gewebsaufschwemmung inokuliert wurden. Es ist daher eher möglich, daß in 12 Prüfröhrchen lebende Erreger nachgewiesen werden können als in 2. Die Bebrütungsdauer bei WEISE betrug maximal 20 Tage, bei den eigenen Versuchen betrug sie dagegen maximal 42 Tage, also mehr als das Doppelte. Dies war durchaus berechtigt, denn wie MISHRA (1964) feststellen konnte, kam es bei L. p o m o n a, die unterschiedlich lange in Nierengewebs Suspensionen bei Kühlschranktemperaturen aufbewahrt wurden, zu einer Wachstumsverzögerung von 1-2 Wochen. Somit können nach einer 20-tägigen Bebrütung derart geschädigter Erreger keine richtigen Schlüsse aus der Nachweisbarkeit gezogen werden. Über die Menge der überimpften Gewebsaufschwemmung und der inokulierten Kulturflüssigkeit finden sich bei WEISE keine Angaben.

Die in dieser Arbeit untersuchten Proben, aus denen nach Kühllagerung Leptospiren herauszuzüchten versucht worden war, waren ebenfalls nach einigen Tagen so stark mit Fremdkörpern kontaminiert, daß nur schwer Erreger nachzuweisen waren. Es konnte jedoch an einer Probe gezeigt werden, daß

die Überlebensdauer von *L. p o m o n a* im Nierengewebe unter Kühlstranktemperaturen mindestens 9 Tage betragen kann. WEISE (1970) stellte in ähnlichen, jedoch umfangreicheren Untersuchungen eine Überlebensdauer für *L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e* von maximal 28 Tagen fest.

Die Prüfung der Überlebensfähigkeit der Leptospiren in Lymphknoten, die bei der Fleischreifung nicht einer entsprechenden Säuerung wie die Muskulatur unterliegen und somit die Erreger länger beherbergen könnten, mußten wegen des hohen Ausgangskeimgehaltes bei der angewandten Reisolierungsmethode fehlschlagen. Die Lösung der Fragestellung, wie lange Leptospiren in gefrorenen Lymphknoten lebensfähig bleiben können mußte entweder nach Herausfinden eines stärker selektiven Nachweismediums oder durch umfangreiche Tierversuche geklärt werden.

Die Frage einer veränderten Infektiosität der nach Gefrierlagerung reisolierten Erreger konnte in dieser Arbeit nicht bearbeitet werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen von ILLARTEIN (1968) sprechen dafür, daß es unter Gefrierlagerung zu einer Virulenzabnahme bei Leptospiren kommt. Für die Klärung dieser Frage können ebenfalls nur Tierversuche herangezogen werden.

Die Tierversuche könnten wie folgt angelegt werden: Zunächst wäre serologisch und kulturell zu prüfen, ob der zu untersuchende Stamm für Meerschweinchen infektiös-fähig ist. Falls das auch mit reisolierten Erregern nach Gefrierlagerung erfolgreich verläuft, könnte mit den eigentlichen Versuchen begonnen werden. Dabei wäre wie im Kapitel Methodik zu verfahren. Die Aufschwemmung des Lymphknotenmaterials würde dann aber nicht in Prüfröhrchen überimpft, sondern Meerschweinchen i.p. injiziert werden. Der Nachweis am Versuchstier könnte an Hand auftretender Krankheitserscheinungen, positiver serologischer Reaktionen sowie kulturellen Nachweis aus der Niere geführt werden. An Hand der Tierversuche könnte man gleichzeitig eine Infektiosität der Erreger nach Gefrierlagerung ermitteln.

Wie die vorstehenden Angaben ergeben, läßt sich L. p o m o n a durch kurzfristige Gefrierlagerung in Nieren und Muskulatur nicht sicher abtöten. Bei der Kühlagerung von Nieren muß nach WEISE (1970) für L. i c t e r o h a e m o r r h a g i a e mit einer Überlebenszeit von 28 Tagen gerechnet werden.

Eine Gefahr für Personen, die am Fleischgewinnungs- und verarbeitungsprozeß beteiligt sind und für den Endverbraucher stellen vor allem infektiöse Nieren dar. Aus der gesichteten umfangreichen Literatur ergibt sich die besondere Exposition der Schlächter. In der DDR soll die Leptospirose nach FENSKE, E. u. FENSKE, G. (1969) die hauptsächlichste Berufsinfektion dieser Personengruppe darstellen. Die Infektion entsteht hauptsächlich durch Kontamination mit leptospirenhaltigem Harn, der aus den angeschnittenen Nieren oder der eröffneten Harnblase auf die meist immer kleinere Verletzungen aufweisenden Hände der Schlächter fließt (KATHE, 1959; WOLFF u. KRÜGER, 1970). Dabei sind Schweineschlächter besonders gefährdet wie JINDRICOVA (1968), HERGT (1969) und WOLFF u. KRÜGER (1970) nachweisen konnten. Rinderschlächter sind nicht in solch starkem Maße betroffen. Dieses wird von SEBEK u. JANICEK (1964) dahingehend interpretiert, daß das Verweilen von Leptospiren im Rinderorganismus nur kurzfristig ist. Ratten auf Schlachthofbetrieben spielen sicherlich heute nur noch eine untergeordnete Rolle als Überträger der Leptospirose bei Schlächtern, wie früher von KATHE u. ENGELHARDT (1953) und HELMERT (1956) beschrieben wurde. Eine Infektionsgefährdung des Endverbrauchers durch Nieren konnte nur an 4 anamnestisch gesicherten Fällen abgeleitet werden. Es waren Köche und Hausfrauen betroffen, die Nieren zubereitet hatten (KMETY, 1957; HERGT, 1971). Eine Infektion durch Rohfleischgenuß beim Menschen konnte in der vorhandenen Literatur nicht sicher nachgewiesen werden. Dagegen wurde von Infektionen über das Trinkwasser bereits mehrfach berichtet (JORGE, 1932;

ZUELZER, 1935; EHLER, 1938; HAUNZ et al., 1952).

Eine orale Infektion des Menschen durch Leptospiren ist demnach möglich. Infektionen durch Rohfleischgenuß, wie sie bei Tieren beschrieben wurden (MICHNA, 1962; REILLY et al., 1970), konnten beim Menschen jedoch noch nicht sicher nachgewiesen werden.

E. Schlußfolgerungen

Das Überleben von L. p o m o n a in gefrorener Muskulatur des Schweines, d.h. die Reisolierbarkeit mit Korthofmedium, ist länger als bisher angenommen (maximal 14 Tage).

Die Streuung der Überlebensdauer ist sehr groß. Sie ist offensichtlich von mehreren Faktoren abhängig.

Unterschiedliche Einfrier- und Lagerungstemperaturen von -10, -20 und -40°C spielen offensichtlich als Faktor keine Rolle. Im Grunde genommen handelt es sich bei allen Modifikationen um ein langsames Einfrieren, was durch Einfrieraten von weniger als 1°C/Min. charakterisiert ist.

Die Überlebenszeiten liegen bei Proben mit einem Fremdkeimgehalt im Ausgangsmaterial unter 10^2 /g bedeutend höher als bei solchen mit einem Ausgangskeimgehalt von 10^2 bis $4,3 \times 10^2$ /g.

Durch niedrigen pH-Wert (5,6-5,8) im Vergleich zu 5,9-7,3 im Ausgangsmaterial wird die Nachweisbarkeitsdauer deutlich herabgesetzt.

Eine Abhängigkeit der Überlebensfähigkeit vom Gewicht und der Wäßrigkeit der Proben ist nur scheinbar. Die Ursache kürzerer Überlebenszeiten bei kleinen Proben und wäßrigem Fleisch ist in der methodisch bedingten geringen Inokulationsmenge/g Fleisch zu sehen.

In gefrorenen Schweinenieren kann L. p o m o n a seine Lebensfähigkeit maximal 18 Tage erhalten.

Die Faktoren Fremdkeimgehalt, pH-Wert und Probengröße scheinen hier keine besondere Rolle zu spielen.

Eine rasche Abtötung von L. p o m o n a in Muskulatur und Nieren durch einen Einfrierprozeß und kurze Gefrierlagerung ist nicht gewährleistet. Das Einfrieren als Verfahren zur Brauchbarmachung hygienisch bedenklichen Fleisches kommt daher für Leptospiren nicht in Frage.

Die Gefährdung des Menschen durch Leptospirosen der Schlacht-tiere ist differenziert zu sehen.

Personen, die am Fleischgewinnungsprozeß, vornehmlich im Schlachthof, beteiligt sind, sind in erhöhtem Maße, hauptsächlich durch das Schlachtschwein, infektionsgefährdet.

Der Endverbraucher kann durch Kontakt mit Nieren, weniger durch Kontakt mit Rohfleisch gefährdet werden.

Orale Infektionen durch Rohfleischgenuß sind beim Menschen jedoch nicht wahrscheinlich.

F. Zusammenfassung

Das Problem der Leptospirose als Zoonose in den Nutztierbeständen ist nicht beseitigt. Die bisherigen Maßnahmen der amtlichen Schlachttier- und Fleischuntersuchung können eine Gefährdung des Menschen über das Schlachttier nicht ausschließen. Es galt daher, in dieser Arbeit die Frage zu prüfen, ob durch einen Gefrierprozeß eine zusätzliche Sicherheit erzielt werden kann und in welchem Zeitraum sich Leptospiren durch den Gefrierprozeß in Nieren, Muskulatur und Lymphknoten abtöten lassen, da in der bisherigen Literatur sehr widersprüchliche Angaben zu finden sind.

Es wurden Muskel- und Nierenwürfel mit *L. pomona*-Kulturen inokuliert, verpackt und bei -10°C , -20°C und -40°C eingefroren. In regelmäßigen Zeitabständen bis zu 16 Tagen bei Muskelproben und 21 Tagen bei Nierenproben wurden Einzelproben aus diesen Chargen entnommen und kulturell auf das Vorhandensein lebens- und vermehrungsfähiger Erreger geprüft. Dabei wurden pro Muskelwürfel 10 und pro Nierenwürfel 6 Teilproben entnommen, von denen eine Aufschwemmung in Korthof-Basis-Medium hergestellt wurde, von der jeweils 0,25ml in 10 bzw. 6 Prüfröhrchen überimpft und bis zu 42 Tage bei 29°C bebrütet wurden. In der Muskulatur überlebte *L. pomona* nach Außerachtlassung der stärker kontaminierten Proben 8 Tage bei -10°C und jeweils 7,5 Tage bei -20°C und -40°C (Medianwerte). Ein pH-Wert der Muskulatur unter 5,9 verkürzte die Überlebenszeit um durchschnittlich 3 Tage.

In Nierenproben überlebte der Erreger 11 Tage bei -10°C und -20°C und 10 Tage bei -40°C (Medianwerte). Eine Abhängigkeit der Überlebensrate von der Einfriertemperatur ergab sich nicht.

In Lymphknotenproben, bei denen zerkleinerte Lymphknotenmasse mit Leptospirenkulturflüssigkeit vermischt wurde, gelang bei der angewendeten Methodik kein Nachweis der

Erreger nach dem Gefrierprozeß, da die Leptospiren infolge des unvermeidbaren Ausgangskeimgehaltes des Prüfmaterials stark in ihrer Entwicklung im Prüfröhrchen gehemmt wurden.

Eine sichere Abtötung, die wirtschaftlich vertretbar wäre, kann sowohl bei Vorhandensein von *L. p o m o n a* in Nieren als auch in der Muskulatur durch das Einfrieren nicht erreicht werden.

Summary

The problem of Leptospirosis, occurring as zoonosis in live-stock, has not been removed yet. Official measures of fat-stock and meat inspection activities as well, cannot exclude hazards to human beings by fat-stock. Therefore the point of this thesis was to check on the question of leptospiral destruction in kidneys, muscular tissue, and lymph nodes, and on the interval this takes as well, because of quite contradictory statements in literature till now existing.

Tissue cubes of muscle and kidney were inoculated with fluid cultures of *L. pomona* wrapped up in aluminium foil, and frozen accordingly at -10°C , -20°C , and -40°C . Samples were taken daily from these charges, for up to 16 days from muscular tissue, and for up to 21 days from kidneys, and tested for the presence of vital and fertile germs, employing fluid cultures. To this purpose sample portions were taken from each tissue cube, 10 from muscle and 6 from kidney, which portions served the preparation of a suspension in Korthof-Leptospira-broth-base, 0,25ml of which was transoculated to 10 and 6 test tubes with Korthof-Leptospira-broth, and incubated for a period up to 42 days at 29°C . Neglecting heavier contaminated samples, periods of survival were found for *L. pomona* in muscular tissue for 8 days at -10°C and of 7.5 days at -20°C and -40°C each (medians). Germ survival was curtailed by 3 days in muscular tissue at pH 5.9 and less. In kidney samples the germs survived for 11 days at -10°C and -20°C , and for 10 days at -40°C (medians). No dependency of the survival rate upon the freezing temperature could be established.

In samples of lymph nodes in which macerated material of lymph nodes was mixed with culture fluid of *L. pomona*,

no proof of germs could be obtained by the method employed neither after the freezing process nor by the freeze storage, since the growth of Leptospirae in the test tubes was heavily inhibited by the inevitable initial germ content of the test material.

An economically advocatable secure germ destruction of *L. p o m o n a* cannot be attained by freezing or freeze storage in kidneys as well as in muscular tissue

G. Literaturverzeichnis

- Aguirre, W.G., de Botargues, A.A.P., Dorta, G. u. Tunes, J.B.
Relationship between leptospiral infection
in pigs and the presence of antibodies in
meat-workers
Revta Fac. Cienc. La Plata 9, 141-146 (1967)
ref. in Vet. Bull. 38, 438 (1968)
- Alexander, A.D., Yager, R.H. u. Keefe, T.J.
Leptospirosis in swine
Bull. Off. int. Epiz. 61, 273-304 (1964)
- Alexander, A.D., Lessel, E.F., Evans, L.B., Frank, E. u.
Green, S.S.
Preservation of leptospiras by liquid
nitrogen
Intern. J. Syst. Bact. 22, 165-169 (1972)
- Alisova, Z.L. Thesis Moscow (1946)
zit. nach Bernkopf, H. et al. (1948)
- Alston, J.M. u. Broom, J.C.
Leptospirosis in man and animals
E. u. S. Livingstone Ltd., Edinburgh und
London (1958)
- Angeloff, S. Die Leptospiren der Haustiere und ihre
Beziehung zu der Leptospirose des Men-
schen
Arch. exper. vet. med. 14, 1170-1174 (1960)
- Awrorow, A.A. Einige Ergebnisse der Erforschung der
pathologischen Anatomie und Pathogenese
des Icterus infectiosus der Rinder
Zschr. Veterinärk. 53, 32-40 (1941)

- Babudieri, B. La leptospirosi delle risaie italiane
Symp. Hig. Barcelona, 45-51 (1953)
zit. nach Kathe, J. und Mochmann, H. (1967)
- ders. Einige Wachstumsfaktoren für Leptospiren
Internationales europäisches Symposium
„Leptospiren und Leptospirosen bei
Mensch und Tier“, Lublin 1958
ref. von Mochmann, H. (1959)
- Bachmann, R. Epizootologische Betrachtungen zur
Canicola-Leptospirose
Mhefte vet. med. 11, 151-152 (1956)
- Bernuth, K. v. Über die Leptospirose der Rinder und das
Vorkommen von Antikörpern gegen Lepto-
spiren in Blutseren von Schlachtrindern
auf dem Schlachthof Frankfurt/M.
Vet. med. Diss. Gießen 1962
- Bernkopf, H., Oltitzki, L., Stuczynski, L.A., Gotlieb, T.
u. Halevi, C.
Experiments with a bovine strain of
Leptospira isolated from a human patient
J. inf. dis. 83, 232-237 (1948)
- Bigler, W.J., Collins, T.E., Nichols, J.B., Galton, M.M.
u. Prather, E.C.
Trends of sporadic leptospirosis in Florida
Publ. Hlth. Rep., Wash. 85, 225-232 (1970)
- Bisping, W., Dimitriadis, J., Pozvari, M., Redlich, H. u.
Weiland, E.
Die Verbreitung der Leptospirose bei Rindern
und Schweinen in Nordwestdeutschland und
ihre Bedeutung für die Fleischbeschau
Schlacht u. Viehh. Ztg. 71, 173-178, 219-
223 (1971)

- Boquien, Y., Kolochine-Erber, B., Hervouet, D. u. Duhamel
zit. nach Mochmann, H. u. Mahnke, P.F. (1959)
- Bordjoski, M. Die Charakteristik der Leptospirosen in
Serbien
Zbl. Bakt. I. Orig. 168, 412-419 (1957)
- Borg-Petersen, C.
Om Weilssygdom og andre i Danmark fore-
kommende Leptospiroser
Ugeskr. Laeg. 106, 617 (1944)
zit. nach Alston, J.M. u. Broom, J.C. (1958)
- Borg-Petersen, C. u. Fennestad, K.L.
Studies on bovine leptospirosis and
abortion. I. Serological examination of
aborting and „normal cattle in Denmark
Nord. vet. med. 8, 465-480 (1956)
- Brede, H.D. u. Lempfried, H.
Leptospirenzüchtung in Allantoisflüssig-
keit bebrüteter Hühnereier
Klin. Wschr. 29, 671-672 (1951)
- Breer, C. Ein Beitrag zur Diagnostik und Epizooto-
logie der Leptospirose des Schweines
Vet. med. Diss. Zürich 1968
- Buchanan, G. Spirochetal jaundice
Ros. Counc. Spec. Rep., London 113 (1927)
zit. nach Kathe, J. u. Mochmann, H. (1967)
- Buchmeiser, R. Untersuchungen über das Vorkommen von Lepto-
spirenantikörpern bei Rindern in Österreich
Wien. tierärztl. Mschr. 49, 938-944 (1962)

- Bürki, F. Zum Nachweis von Leptospiren mittels des
Goldhamster-Tierversuchs
Zbl. Bakt. I Orig. 178, 211-222 (1960)
- ders. Häufigkeit, jahreszeitliches Auftreten
und Typenverteilung der Leptospiren-
aborte beim Kind in der Schweiz
Dtsch. tierärztl. Wschr. 71, 449-452 (1964)
- Bürki, F. u. Wiesmann, E.
Leptospira pomona als Ursache gehäufter
Kinderaborte auf einer Alpweide
Dtsch. tierärztl. Wschr. 69, 189-193 (1962)
- dies. Gemeinschaftseber und Leptospirenaborte
beim Schwein
Schweiz. Arch. Tierhk. 105, 491-499 (1963)
- Burnstein, T. u. Baker, J.A.
Leptospirosis in swine caused by L. pomona
J. inf. dis. 94, 53-64 (1954)
- Campbell, A.M.G., Macrae, J., Manderson, W.G., Sumner, K.C.
u. Broom, J.C.
Canicola fever in Bristol
Brit. med. J. 1950 I, 336-340 (1950)
- Carbrey, E.A. u. Packer, R.A.
The detection of antibodies against
L. pomona in composite herd milk samples
Amer. J. Vet. Res. 22, 573-578 (1961)
- Caroll, R.E. u. Le Clair, R.A.
Isolation of leptospiral serotype patoc
from cattle in southern California
Amer. J. Vet. Res. 30, 2231-2232 (1969)

- Catchpole, M. Leptospiral jaundice in silver foxes
Vet. Rec. 14, 376-378 (1934)
- Cervová, H., Kroš, A., Mertenová, J. u. Nevarilová, A.
Antropozoonozy
Osveta, Bratislava, 1962
zit. nach Jindrichova, J. (1968)
- Chang, S.L. Studies on *L. icterohaemorrhagiae*
I. Two new mediums for growing *L. ictero-*
haemorrhagiae, *L. canicola* and *L. biflexor*,
and a method for maintaining the virulence
of *L. icterohaemorrhagiae* in culture
J. inf. dis. 81, 28-47 (1947)
- Chang, S.L., Buckingham, M. u. Taylor, M.P.
Studies on *L. icterohaemorrhagiae*
IV. Survival in water and sewage: Destruction
in water by halogen compounds, sythetic
detergents and heat
J. inf. dis. 82, 256-266 (1948)
- Chemnitz, H. Serologische Untersuchungen von Haustieren
auf Leptospirose
Zschr. Immunit. forsch. 110, 395-404 (1953)
- Chung, H.L., Tsao, W.C., Mo, P.C., u. Yen, C.
China Med. J. 82, 777 (1963)
zit. nach Coghlán, J.D. u. Bain, A.D. (1969)
- Clark, L.G., Kresse, J.I., Marshak, R.R. u. Hollister, C.J.
Leptospira pomona isolations by direkt
blood culture of clinically infected
cattle
J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 668-669 (1960)

- dies. L. grippotypcosa infections in cattle
and wildlife in Pennsylvania
J. Amer. Vet. Med. Ass. 141, 710-712 (1962)
- Coghlan, J.D., Norwal, J. und Seiler, H.E.
Canicola fever in man through contact
with infected pigs
Brit. med. J. 1957 I, 257-261 (1957)
- Coghlan, J.D., Lumsden, W.H.R. u. Mc Neillage
Low temperature preservation of Lepto-
spira, preliminary communication
J. Hyg. 65, 373-379 (1967)
- Coghlan, J.D. u. Bain, A.D.
Leptospirosis in human pregnancy followed
by the death of the fetus
Brit. med. J. 1969 I, 228-230 (1969)
- Corbould, B. Leptospira hardjo in Tasmania
Austral. vet. J. 47, 26 (1971)
- Cox, C.D. u. Larson, A.D.
Colonial growth of Leptospirae
J. Bact. 73, 587-589 (1957)
- Crawford, R.P., Heinemann, J.M., Mc Culloch, W.F. u.
Diesch, S.L.
Human infections associated with waterborn
leptospires, and survival studies on
serotype pomona
J. Amer. Vet. Med. Ass. 159, 1477-1484 (1971)

Dabernat, H., Lareng, M.B., Maillaux, W.

Enquête sur la présence d'anticorps anti-leptospires chez les bovins de la Haute-Garonne

Rev. méd. vét. 123, 1529-1536 (1972)

Dahl, G.

Die Leptospirose des Rindes
(Eine Literaturübersicht)

Vet. med. Diss. Hannover 1959

Davidson, L.S.P. u. Smith, J.

Brit. med. J. 1934II, 1187 (1934)
zit. nach Mishra, A. (1964)

Davidson, K.R. Leptospira hardjo infection in man associated with an outbreak in a dairy herd
Austral. vet. J. 47, 408 (1971)

Degtjarev, V.I. Die Bedeutung der Eber bei der Verbreitung der Leptospirose

Veterinarija 40, 25-26 (1963)
ref. in Landw. Zbl. IV 8, 2591-2592 (1963)

ders.

Die Schweineleptospirose und Maßnahmen zu ihrer Bekämpfung

Materialy simpoziuma veterinarnoj sekeii
Otd. živ VASChNIL 2-4 ijulja 1964 g
1965, 4-14
ref. in Landw. Zbl. IV 11, 2015 (1966)

Degtjarev, V.I. u. D'jačenko, T.D.

Die Infektion der Sauen durch pathogene Leptospiren über die Geschlechtsorgane (experimentelle Werte)

Sb. nauč. rabot. Sev.-Kavkaz. zonal'n n.-i vet. in-t 15, 38-40 (1972)
ref. in Landw. Zbl. IV 18, 2034 (1973)

Diesch, S.L. u. McCulloch, W.F.

Isolation of pathogenic Leptospire from
waters used for recreation

Publ. health rep. 81, 299-304 (1966)

Dietze, J.

Über das Vorkommen von Antikörpern gegen
Leptospiren im Blut von Pferden und
Rindern im Raume Hessen

Vet.med. Diss. Gießen 1968

Dimitrow, D.

Sowremenna medicina 4, 125 (1956)

zit. nach Mateew, D. et al. (1961)

Dold, H., Jordan, G., Merker, H., Schmid, F. u. Sjösten, H.

Eine Feldfieberepidemie mit epidemiolo-
gischen Besonderheiten

Dtsch. med. Wschr. 83, 2322-2325 (1958)

Doeleman, F.P.J.

Ziekte van Weil

Ned. Tsch. v. Gen. 76, 5057 (1932)

zit. nach Gsell, O. (1952)

Drogun, A.G., Sorochoy, V.V., Sološenko, I.Z. u. Petrov, E.M.

Pathologische Veränderungen bei der
spontanen Leptospirose des Schweines

Veterinarija 46, 47-49 (1970)

ref. in Landw. Zbl. IV 15, 1951(1970)

Ehler, J.

Eine Endemie Weilscher Krankheit

Med. Klin. 34, 963-964 (1938)

Ellinghausen, H.C.

Nephelometry and a nephelo-culture flask
used in measuring growth of Leptospire
Amer. J. Vet. Res. 20, 1072-1076 (1959)

Ellinghausen, H.C. u. Mc Cullogh, W.G.

Nutrition of *L. pomona* and growth of 13
other serotypes: Fractionation of oleic
albumin complex and a medium of bovine
albumin and polysorbate 80
Amer. J. Vet. Res. 26, 45-51 (1965)

Engelhardt, K. Leptospirose, eine häufig unerkannte
Infektionskrankheit
Landarzt, 45, 763-768 (1969)

Faine, S. Virulence in Leptospirae III. Comparison of
sensivities of virulent and of avirulent
L. icterohaemorrhagiae to cultural conditions
J. Bact. 77, 599-603 (1959)

ders. Epidemiology, diagnosis and control of
Leptospirosis in man
Bull. Off. int. Epiz. 73, 93-99 (1970)

Fennestad, K.L. Om leptospiroser hos vore husdyr
Nord. vet. med. 8, 325-347 (1956)

Fennestad, K.L. u. Borg-Petersen, C.

Acta pathol. and microbiol. Scand. Suppl.
111. Transactions of the 11th Scandinavian
Congress of Pathology and Bacteriology
Aarhus 1955, 188
zit. nach Mochmann, H. (1957)

- dies. Fetal leptospirosis and aborting in cattle
J. inf. dis. 102, 227-236 (1958)
- Fenske, E. u. Fenske, G.
Epidemiologische Untersuchungen zur Infektion des Menschen mit *L. tarassovi* und *L. pomona*
Mhefte vet. med. 24, 892-897 (1969)
- Fenske, E., Fenske, G. u. Oberdoerster, F.
Vom Schwein erworbene menschliche Leptospireninfektionen in der DDR
Zschr. ges. Hyg. 15, 577-585 (1969)
- Ferguson, L.C. Leptospirosis
in Dunne, H.W. Diseases of swine
Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA
3. Auflage 1970
- Fiedler, A. Zur Weilschen Krankheit
Dtsch. Arch. klin. Med. 42, 261-294 (1888)
- Field, H.J. u. Sellers, K.C.
Leptospira icterohaemorrhagiae infection in the calf
Vet. Rec. 21, 311-313 (1950)
- Fiocre, B. u. Lataste-Dorolle, C.
Premiers résultats d'une enquête sur les leptospiroses bovines dans le Pays-Fort (Cher-Nord)
Bull. Acad. vét. France 37, 367-369 (1964)
- Fletcher, W. Recent work on leptospirosis a.s.o. in the Federal Malay States
Transact. Roy. Soc. Trop. med. and Hyg. 21, 265 (1927/28)
zit. nach van Thiel, H.P. (1948)

Fritzsche, K. u. Kohl, D.

Serologische Untersuchungen über die Verbreitung der Leptospiren der Haustiere in Rheinland-Pfalz

Mhefte prakt. Tierhk. 15, 34-54 (1963)

Frunder, M.A.

Zur Leptospirenzüchtung

Zbl. Bakt. I. Orig. 158, 519-526 (1952)

Fuchs, G.H.P.

Beiträge zur Leptospirenzüchtung

I. Mitteilung. Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Rinderaugen-Glaskörpers und des Regenwassers als Grundsubstrat für die Leptospirenkultur

Zbl. Bakt. I. Orig. 174, 601-615 (1959)

ders.

Zur Problematik arbeitsbedingter Leptospireninfektionen bei Angehörigen sog. Schmutzberufe

Zbl. Bakt. I. Orig. 180, 549-561 (1960)

Fuchs, G.H.P. u. Walter, H.

Beiträge zur Leptospirenzüchtung

II. Mitteilung. Einfluß von Haemoglobin auf das Wachstum pathogener Leptospiren

Zbl. Bakt. I. Orig. 175, 570-581 (1959)

Fuchs, G.H.P. u. Wichmann, G.

Immunserologische Untersuchungen über das Vorkommen der Schafleptospirose unter besonderer Berücksichtigung der Infektion mit *L. bovis*

Zschr. Immunit. forsch. 123, 270-283 (1962)

Fuchs, G.H.P. u. Hartmann, H.

Über das Vorkommen von Leptospireninfektionen bei Dienst- und Gebrauchshunderassen im Bezirk Dresden

Arch. exper. vet. med. 28, 869-877 (1974)

Füzi, M.

Die Vancomycin-Resistenz der Leptospiren

Zbl. Bakt. I. Orig. 223, 368-371 (1973)

Fujikura, T.

Studies on leptospiral colony formation in bottle culture: conditions favouring *L. icterohaemorrhagiae* colony formation
Jap. J. Vet. Sc. 28, 297-306 (1966)

Galton, M.M.

The epidemiology of leptospirosis in the United States

Publ. Health Rep. 74, 141-148 (1959)

Gaumont, R.

Enquête sur la présence d'agglutinines antileptospires chez les animaux domestiques en France

Bull. Off. int. Epiz. 66, 833-848 (1966)

Gillespie, R.W.H., Kenzy, S.G., Ringen, L.M. u. Bracken, F.K.

Studies on bovine leptospirosis
III. Isolation of *L. pomona* from surface waters

Amer J. Vet. Res. 18, 76-80 (1957)

Gochenour, W.S. u. Yager, R.H.

Manifestations of bovine Leptospirosis
Vet. Med. 48, 218-220, 243 (1953)

Götz, P.

Leptospiren beim Schwein, bakteriologische und serologische Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung des Grenztiters
Vet. med. Diss. München 1953

Graubmann, H.D. u. Dobbriner, W.

Vorkommen von *L. pomona* und *L. tarassovi*
Antikörpern bei Rindern im Bezirk Schwerin
Mhefte vet. med. 24, 228-230 (1969)

Graubmann, H.D., Dobbriner, W. u. Radtke, W.

Untersuchungen über das Vorkommen von *L.*
pomona Titern bei Schafen im Bezirk
Schwerin
Arch. exper. vet. med. 24, 777-780 (1970)

Griem, R. u. Oberdoerster, F.

Die Bedeutung der Meldepflicht bei
Leptospirosen
Dtsch. Gesd.wes. 23, 424-425 (1968)

Grossklaus, D. Die Untersuchung der Schlachttiere im
Herkunftsbestand
Fleischwirtschaft 53, 1721-1725 (1973)

Grumbach, A. u. Kikuth, W.

Die Infektionskrankheiten des Menschen
und ihre Erreger
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1958

Gsell, O. Leptospirosis *pomona*, die Schweinehüter-
krankheit
Schweiz. med. Wschr. 76, 237-241 (1946)

ders. Leptospirosen

Med. Verlag H. Huber, Bern 1952

Gsell, O. u. Wiesmann, E.

Leptospirosis *typ mitis*
Schweiz. med. Wschr. 78, 503-506 (1948)

Habel, R.E. v.

- . -

J. Amer. Vet. Med. Ass. 114, 436 (1949)

Hadorn, W.

Beiträge zur Kenntnis der maladie des
jeunes porchers

Schweiz. med. Wschr. 19, 375-378 (1938)

Haendel, Ungermann u. Jaenisch

Experimentelle Untersuchungen über die
Spirochaete der Weilschen Krankheit
(Icterus infectiosus)

Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamte
51, 42-158 (1919)

Hakioglu, F.

Die in der Türkei durch L. bovis verur-
sachte Rinderleptospirosis und die dabei
beobachteten Symptome sowie die fest-
gestellten Hautveränderungen

Dtsch. tierärztl. Wschr. 65, 404-406 (1958)

Hamdy, A.H., Brownlow, W.J. u. Dedeaux, J.D.

Leptospirosis in bovines and their human
contacts in Egypt (U.A.R.)

Amer. J. Trop. Med. Hyg. 11, 98-101 (1962)

Hanson, L.E.

Problems related to epizootology of
swine Leptospirosis

J. Amer. Vet. Med. Ass. 160I, 631-634 (1972)

Hartwigk, H. u. Stoebbe, E.

Leptospirenfundes im Harn und in den Nieren
von Rindern

Berliner Münchener tierärztl. Wschr.
75, 241-244 (1962)

Haunz, E.A. u. Cardy, J.D.

Canicola fever. Reprint of nine cases in one family, with abstract of world literature

A.M.A. Arch. Int. Med. 89, 978-993 (1952)
zit. nach Galton, M.M. (1959)

Haupt, H.

Medizinisch Bakteriologische Diagnostik
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1964

Heber, L.

Über die Leptospirose der Schweine und das Vorkommen von Antikörpern gegen Leptospiren in Blutseren von Schlachtschweinen aus dem Raume Hessen

Vet. med. Diss. Gießen 1963

Helmert, H.

Unerkannte morbus Weil Endemie auf einem Schlachthof

Zschr. ges. Hyg. 1, 10-42 (1956)

Hergt, R.

Infektionen mit Leptospiren des Serotyps tarassovi. Erste während der akuten Krankheitsphase diagnostizierte Fälle in der DDR

Dtsch. Gesd.wes. 24, 1760-1763 (1969)

ders.

Tarassov-Leptospirose durch Zubereitung von Schweinenieren im Haushalt

Dtsch. Gesd.wes. 26, 1903-1904 (1971)II

Herreiner, A.

Serologische Untersuchungen auf Leptospirose bei Schlachtrindern im Schlachthof München

Vet. med. Diss. München 1953

van der Hoeden, J.

The pathogenicity of *Leptospiras* to field rodents in Israel. (A new test animal for use in *Leptospira* research)

J. inf. dis. 95, 213-219 (1954)

ders. Leptospirosis canicularis in pigs and their probable transfer in human beings

J. inf. dis. 98, 33-38 (1956)

ders. Leptospiral infections in hedgehogs

J. inf. dis. 103, 225-238 (1958)

van der Hoeden, J., Shenberg, E. u. Torten, M.

The epidemiological complexity of *L. canicola* infection in man and animals

Israel J. med. Sci. 3, 880-884 (1967)

ref. in Vet. Bull. 38, 369 (1968)

Horsch, F.

Zur Rolle der Leptospireninfektionen bei Aborten in einigen Zuchtschweinebeständen in Nordbezirken der DDR

Mhefte Vet. med. 20, 806-811 (1965)

ders. *Leptospira*-hyos-Infektionen bei Schweinen in der DDR

Mhefte Vet. med. 22, 144-147 (1967)

ders. Die Leptospirose der Schweine und anderer landwirtschaftlicher Nutztiere

Fortschrittsberichte für die Landwirtschaft 6, Heft 4 (1968)

ders.

Leptospirose
in Beer, J. Infektionskrankheiten der Haustiere Teil II

VEB fischer Verlag, Jena 1974

Horsch, F., Schröder, H.-D. und Graumann, H.

Leptospira-pomona-Infektion beim Schwein

Mhefte Vet. med. 21, 418-420 (1966)

Illartein, P.R. Contribution à l'étude de la biologie du

leptospire de l'ictère hémorrhagique.

Recherches expérimentales sur le diagnostic
bactériologique des lepospiroses chez
l'animal

Bull. Off. int. Epiz. 69, 761-773 (1968)

Inado, R. u. Ito, Y.

Saikuigaku Zasshi 239, (1915)

zit. nach Fuchs, G.H.P. (1959)

Ingram, P.L., Jack, E.J. u. Smith, J.E.

An outbreak of *L. icterohaemorrhagiae*
infections in calves

Vet. Rec. 64, 858-868 (1952)

Ioli, A. u. Mtatace-Rase, G.

Leptospirose auf den Reisfeldern von
Calabrien. Mitt. I Serologische Unter-
suchungen von Arbeitern und Rindern der
Reisgegend

Arch. vet. ital. 14, 250 (1963)

ref. in Veterinärmedizin 17, 526 (1964)

Janbon, M., Erber, B., Sollier, N. u. Quet, M.

Une épidémie de spirochétose ictéro-
hémorrhagique

Bull. Acad. méd. 118, 203 (1937)

zit. nach Gsell, O. (1952)

Jelineck, V.

Spisy Vys. Skoly vet. Brno 18, 158 (1950)

zit. nach Michna, S.W. (1967)

- Jindrichova, J. Das Leptospiosenrisiko in der Schweinezucht
Zschr. ges. Hyg. 14, 207-210 (1968)
- Johnson, R.C. u. Palmer, R.
5-Fluorouracil as a selective agent for
growth of Leptospirae
J. Bact. 87, 422-426 (1964)
- Jones, R.K. Study of the viability of *L. pomona* in
frozen extended bovine semen
J. Amer. Vet. Med. Ass. 133, 216-218 (1958)
- Jorge, R. Une épidémie, à Lisbonne, d'ictère
hémorragique d'origine hydrique contracté
per os. Nosologie, bactériologie et
épidémiologie.
Bull. Off. int. Hyg. publ. 24, 88 (1932)
zit. nach Alston, J.M. u. Broom, J.C. (1958)
- Kaneko, R. Zur Kultur der *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*
und der *Spirochaeta hebdomadis*
Zbl. Bakt. I. Orig. 87, 345-354 (1922)
- Karyševa, A.F. Die klinischen Besonderheiten der Lepto-
spirose bei Schweinen
Materialy simpoziuma veterinarnoj sekeii
Otd. živ. VASChNIL 2-4 ijulja 1964
1965, 69-73 (1965)
ref. in Landw. Zbl. IV 11, 2015 (1966)
- Kathe, J. Experimentelle Untersuchungen über die
Infektion von Mäusen mit *L. grippotyphosa*
Zbl. Bakt. I. Orig. 152, 479-489 (1947/48)
- ders. Die Leptospirose und ihre Verbreitung
in der DDR
Zschr. ges. Hyg. 1/2, 39-62 (1955/56)

- ders. Die Leptospirose als Berufskrankheit
Arch. Gewerbepath. 17, 316-328 (1959)
- Kathe, J. und Engelhardt, K.
Ratten und Weilsche Krankheit in Lebensmittelproduktionsbetrieben
Desinfektion 2/3, 155-158 (1953)
- Kathe, J., Mochmann, H., Klinkmann, H. u. Dutz, W.
Eine morbus weil Gruppenerkrankung in einer Molkerei
Dtsch. Gesd.wes. 19, 1828-1832 (1964)
- Kathe, J. u. Mochmann, H.
Leptospiren und Leptospirosen, Band I u. II
VEB Fischer Verlag, Jena 1967
- Kemenes, F. Die Leptospirose des Schweines
Mhefte Vet. med. 22, 224-233 (1967)
- Kindler, M. u. Schindler, R.
Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern gegen Leptospiren beim Schwein
Mhefte prakt. Tierhk. 2, 14-19 (1950)
- Kirschner, L. u. Maguire, T.
Survival of Leptospira outside their hosts
N.Z. med. J. 56, 385-391 (1957)
zit. nach Michna, S.W. (1970)
- Kirschner, L., Maguire, T. u. Bertaud, W.S.
Further evidence of the antileptospiral effect of milk: electron microscopic studies
Brit. J. exp. Path. 38, 357-361 (1957)
ref. in Vet. Bull. 28, 66 (1958)

Kleinslanghorst, J.

Sollte nicht die Leptospirose im Hinblick auf die fleischhygienische Bedeutung mit in die AB.A zum FG vom 15.3.1960 aufgenommen werden?

Schriftliche Arbeit für die staatstierärztliche Prüfung aus dem Gebiet der gerichtlichen Veterinärmedizin Berlin 1964

Kmety, E. Leptospirenforschung in der Slowakei

Zbl. Bakt. I. Orig. 161, 382-389 (1954)

ders. Ergebnisse der epidemiologischen Forschung über Leptospiren in der Tschechoslowakei

Zbl. Bakt. I. Orig. 168, 277-280 (1957)

Kmety, E., Pleško, J. und Chylo, E.

„Weitere Ergebnisse der Leptospirenforschung in der Slowakei

Zbl. Bakt. I. Orig. 167, 243-253 (1957)

Kmety, E., Plško, J. u. Bakoss, P.

Leptospiroten im Tierexperiment

in Kathe, J. u. Mochmann, H. (1967)

Knorre, G. v. Die aktuelle Situation der Leptospirose des Menschen in der DDR

Mhefte Vet. med. 24, 401-406 (1969)

Köhler, W. u. Mochmann, H.

Grundriß der medizinischen Mikrobiologie

VEB Fischer Verlag, Jena 4. Auflage 1975

Koliev, M.F., Fedjuškin, M.E. u. Fedjuškina, T.T.

Probleme der Gebietsepizootologie und der
Leptospirosebekämpfung

Veterinarija 42, 28-29 (1965)

ref. in Landw. Zbl. IV 11, 955 (1966)

Kolochine-Erber, B. u. Colombier, M.

Agglutination des Leptospires en particulier
des L. pomona par les sérums du porc

Ann. Inst. Pasteur 79, 370 (1950)

zit. nach Mochmann, H. u. Mahnke, P.-F. (1959)

Kolochine-Erber, B. u. Mailloux, M.

Les Leptospiroses du porc en France, et
leurs consequences en médecine humaine

Zbl. Bakt. I. Orig. 180, 371-378 (1960)

dies.

Les Leptospiroses humaines à L. pomona
et L. mitis Johnson 1942 (maladie des
porchers)

Ann. Inst. Pasteur 100, 53-70 (1961)

Konrad, J. u. Vošta, J.

Studien über das Vorkommen von Antikörpern
gegen Leptospiren bei Pferden und Rindern
in der CSSR

Berliner Münchener tierärztl. Wschr.
80, 348-350 (1967)

Korthof, G.

Experimentelles Schlammfieber beim Menschen

Zbl. Bakt. I. Orig. 125, 429-434 (1932)

Kotowa, O.M.

Zur Frage der lebensmittelhygienischen Ein-
schätzung des Fleisches bei der Leptospirose
der Tiere

zit. nach Weise, E. (1967)

- Koudela, K. Die Fleischhygiene und Leptospirosen
Veterinárstvi 21, 74 (1971)
ref. in Landw. Zbl. IV 17, 1207 (1972)
- Kovacsovics, T. Serologische Untersuchungen von Schlachtschweinen auf Leptospirose
Vet. med. Diss. Wien 1965
zit. nach Redlich, H. (1970)
- Kowalski, G.H. Zur Epidemiologie des Wasserfiebers
Wiss. Konferenz der Institute für Epidemiologie in Stawropol am 29.10.1948, übersetzt durch Kathe
zit. nach Gsell, C. (1952)
- Krepkogorskaya, T.A. u. Rementsova, M.M.
Isolation of Leptospire from Dermacentor marginatus ticks collected from cattle
J. Microbiol. 28, 93-94 (1957)
ref. in Vet. Bull. 27, 340 (1957)
- Krüger, A. Vorkommen und Verbreitung der Leptospirosen bei den Haustieren
Berliner Münchener tierärztl. Wschr. 65, 121-124 (1952)
- Kubinyi, M. u. Hegyessy, G.
Leptospirose als Berufskrankheit in Ungarn
Zbl. Bakt. I. Orig. 203, 102-106 (1967)
- Kujumgiev, J. Das Capsaicin als mutagener Faktor bei Leptospiren
Zbl. Bakt. I. Orig. 185, 230-242 (1962)

Kusnir, M.M., Kajgorodow, P.J. u. Zajcew, A.G.

Leptospirosis bei Silberfüchsen und Nerzen
Krolikow. Zwerowod. 3, 22-23 (1961)
zit. nach Zwierzchowski, J. in Kathe, J.
und Wochmann, H. (1967)

Lakatos, M. Berufsbedingte Leptospirenerkrankungen
in Ostungarn

Zschr. ges. Hyg. 11, 245-248 (1965)

Lataste-Dorolle, C.

Agglutinines antileptospire sériques
chez les bovins apparemment normaux
Bull. Off. int. Epiz. 63, 891-905 (1965)

ders. Le leptospire chez l'animal. Acquisitions
récentes d'ordre épizootologique sur la
leptospirose en France

Bull. Off. int. Epiz. 65, 831-849 (1966)

Lawson, J.H. u. Michna, S.W.

Canicola fever in man and animals
Brit. med. J. 1966II 336-340 (1966)

Lelutiu, C. u. Sotiriu, E.

Untersuchung über einige Nährböden zur
Züchtung von Leptospiren
Lucrările Inst. Cercetări Veterin. si
Biopreparate „Pasteur” 1, 87-99 (1962)
ref. in Landw. Zbl. IV 11, 524 (1966)

Liceras de Hidalgo, J. u. Hidalgo, R.

Leptospirosis in cattle and pigs and in
abattoir employees in Tumbes, Peru
Boln. Off. sanit. panam. 48, 297-306 (1970)
ref. in Vet. Bull. 41, 187 (1970)

Liebermann, H. u. Müller, F.

Leptospireninfektion als Abortursache
beim Schwein

Mhefte Vet. med. 16, 349-351 (1961)

Linscott, W.D. u. Boak, R.A.

Protective action of glycerol in the
freezing of Leptospira

J. Bact. 80, 573-574 (1960)

Little, R.S. u. Baker, J.A.

Leptospirosis in cattle

J. Amer. Vet. Med. Ass. 116, 105-111 (1950)

Lohoff, H.L.

Über das Vorkommen von Antikörpern gegen
Leptospiren bei Schlachtschweinen

Vet. med. Diss. München 1953

Löliger, H.C.

Die Resistenz der L. canicola außerhalb
des Tierkörpers

Vet. med. Diss. München 1950

Lucas, H.H.

Zum Vorkommen der Leptospirose bei Schlacht-
rindern und Schlachtschweinen und zu ihrer
fleischhygienischen Bedeutung

Vet. med. Diss. Gießen 1966

Lyubashenko, S.Y., Seregin, I.G., Kostrinka, L.G. u.
Kornelaeva, R.P.

Epizootology and aetiological structure
of Leptospirosis in the USSR

Veterinarija 1974, 48-49 (1974)

ref. Vet. Bull. 44, 720 (1974)

- Mailloux, M. Action de diverses températures sur les
 germes du genre Leptospira
 Zbl. Bakt. I. Orig. 207, 377-381 (1968)
- Manew, C. Ein zweischichtiger Nährboden für die
 Leptospirenstammhaltung
 Zbl. Bakt. I. Orig. 210, 216-220 (1969)
- Marcuse, K. u. Pohlmann, R.
 Zur Epidemiologie der Leptospirose
 (speziell Canicollainfektion in Berlin)
 Zbl. Bakt. I. Orig. 157, 490-497 (1951/52)
- Martin, E. L'état actuel de la classement de la
 spirochétose ictéro-hémorragique dans
 les maladies professionnelles donnant
 lieu à indemnisation (Lois de 1919-1931)
 Méd. du Trav. 10, 90, (1938)
 zit. nach Alston, J.M. u. Broom, J.C. (1958)
- Masterson, R.A. u. Schnurrenberger, P.R.
 Ohio department of health, Columbus
 Unpublished data (1960)
 zit. nach Schnurrenberger et al. (1961)
- Mateew, D., Kujumdjiew, D., Budurow, I. u. Stojanov, D.
 Die Leptospirose als Berufskrankheit der
 Schlachthofarbeiter in Bulgarien
 Zbl. Bakt. I. Orig. 183, 203-216 (1961)
- Menges, R.W. Diagnosis of Leptospirosis from urine
 specimens by direct culture following
 bladder tapping
 J. Amer. Vet. Med. Ass. 132, 58-60 (1958)

Menges, R.W., Rosenquist, B.D. u. Galton, M.M.

A method for the isolation of leptospire
from voided urine by direct culture

J. Amer. Vet. Med. Ass. 137, 313-316 (1960)

Michna, S.W.

The survival of *L. canicola* in the renal
tissue of a pig

Vet. Rec. 71, 549-552 (1959)

ders.

Abortion of a sow due to infection by
L. canicola

Vet. Rec. 74, 917-919 (1962)

ders.

Animal Leptospirosis in the British Isles
A serological survey

Vet. Rec. 80, 394-401 (1967)

ders.

Leptospirosis

Vet. Rec. 86, 484-496 (1970)

Michna, S.W. u. Campbell, R.S.F.

Leptospirosis in pigs: Epidemiology,
microbiology and pathology

Vet. Rec. 84, 135-138 (1969)

Michna, S.W., Ellis, W. u. Dikken, H.

The isolation of *L. hardjo* from an
aborting cow

Res. Vet. Sci. 17, 133-135 (1974)

Mießner, H. u. Dedié, K.

Leptospirosis bei Silberfüchsen

Dtsch. tierärztl. Wschr. 45, 809-818 (1937)

Mifuchi, I., Hosoi, M. u. Yanagihara, Y.

Growth of pathogenic Leptospirae by replacing rabbit serum with Mycobacterium phlei or Mycobacterium smegmatis

J. Bact. 86, 1128-1129 (1963)

Minzat, R.M. u. Tomescu, V.

Über den Nachweis von pathogenen Leptospiren in den Abwässern und im Klärschlamm von Schweinegroßanlagen

Arch. exper. Vet. med. 29, 557-562 (1975)

Mitchell, D. u. Boulanger, P.

Leptospirosis in Canada

IV. An atypical mastitis in cattle due to L. pomona

Canad. J. comp. med. 23, 250-255 (1959)

Mitchell, D., Robertson, A., Corner, A.H. u. Boulanger, P.

Some observations on the diagnosis and epidemiology of Leptospirosis in swine

Canad. J. comp. med. 30, 211-217 (1966)

Mishra, A.

Studies on survival of Leptospira pomona in body fluids and tissues outside the animal host

Indian vet. J. 41, 446-453 (1964)

Mitov, A. u. Jankov, H.

Leptospirenerkrankungen in Bulgarien

Zbl. Bakt. I. Orig. 175, 437-444 (1959)

Mitrofanova-Perfiljeva, E.B.

Zur Frage der Bedeutung von Nahrungsmittelprodukten in der Epidemiologie der Leptospirosen

J. mikrobiol. 28, 56-60 (1957)

zit. nach Weise, E. (1967)

- Mochmann, H. Leptospirenuntersuchungen an Haustieren
Berliner Münchener tierärztl. Wschr.
70, 181-185 (1957)
- ders. Bericht über das internationale europäische
Symposium „Leptospiren und Leptospirosen
bei Mensch und Tier“ Lublin 5.-8.12. 1958
Zbl. Bakt. I. Ref. 170, 26-42 (1959)
- ders. Laboratoriumsdiagnose der Leptospirosen
und der Leptospiren
Zbl. Bakt. I. Orig. 192, 385-399 (1964)
- Mochmann, H. u. Mahnke, P.-F.
Die Leptospirosen des Hausschweines und
deren Bedeutung für die Epidemiologie
menschlicher Leptospirenkrankungen
Verlag Ambrosius Barth, Leipzig 1959
- Monlux, W.S. Studies of Leptospira cultures. Their
longevity, pathogenicity and use as
agglutination antigens
Cornell Vet. 38, 62-69 (1948)
- Münker, W. Die Leptospirosen der Haustiere und ihre
Bedeutung als Infektionsquelle für den
Menschen
Zbl. Vet. med. B. 10, 256-262 (1963)
- Musaev, M.A. Veterinariya, 25.12.1948
ref. von Habel, R.E. v. (1949)
- Nyers, G. M. u. Varela-Diaz, V.M.
Selective isolation of Leptospiras from
contaminated material by incorporation
of Neomycin to culture media
Appl. Microbiol. 25, 781-786 (1973)

- Nees, K.F. Über die Leptospirosen der Schafe und
das Vorkommen von Antikörpern gegen
Leptospiren in Blutseren von Schlacht-
schafen in Raume Hessen
Vet. med. Diss. Gießen 1961
- Noguchi, H. Monographs of the Rockefeller Inst. f.
Med. Res. 20, 10 (1924)
zit. nach van Thiel, P.H. (1948)
- Nuikin, Y.V. Influence of soil pH on the distribution
of Leptospirosis among farm animals in
the Moscow region
Trudy Moskovskoi Veterinarnoi Akademii
54, 120-121 (1970)
ref. in Vet. Bull. 42, 270 (1972)
- Obiger, G. Persönliche Mitteilung 1974
- Obiger, G. u. Schönberg, A.
Leptospirendiagnose mit der intracutanen
Allergieprobe
Fleischwirtschaft 52, 1458-1460 (1972)
- O'Connell, P.J. u. Broom, J.C.
Weils disease. A cautionary tale
Lancet I 1088-1090 (1952)
- Okazaki, W. u. Ringen, L.M.
Some effects of various environmental
conditions on the survival of *L. pomona*
Amer. J. Vet. Res. 18, 219-223 (1957)

Palit, A. u. Sharma, G.L.

Comparison of microscopic Agglutination,
indirect Haemagglutination and complement
fixation tests in rabbit- and buffalo-calf
hyperimmune sera for detection of Lepto-
spiral antibodies

Brit. Vet. J. 127, 154-162 (1971)

Petrů, M. u. Pocorný, B.

Beitrag zur Kenntnis der Leptospira canicola
in der Tschechoslowakischen Republik

Zbl. Bakt. I. Orig. 163, 458-463 (1955)

Pigoury, L., Cottureau, P. u. Gaumont, R.

La Leptospirose bovine contrôle sérologique
des reproducteurs destinés à l'exportation

Bull. Off. int. Epiz. 65, 851-870 (1966)

Popowa, J.M. Leptospirosen als Berufskrankheit in
Leningrad

Z. mikrobiol. 31, 26 (1960)

zit. nach Kleinlanghorst, J. (1964)

Pozvari, M. Untersuchungen und Verbreitung der Schweine-
leptospirose in Nordwestdeutschland

Vet. med. Diss. Hannover 1971

Raetz, G. u. Herr, W.

Leptospira grippotyphosa Infektionen bei
Rindern. Ein Beitrag zur Epizootologie
der Rinderleptospirose

Mhefte Vet. med. 28, 931-934 (1973)

Rankov, M. Über eine Trinkwasserepidemie von
Leptospirose

Zschr. Hyg. 140, 556-572 (1955)

- Redlich, H. Verbreitung, Bedeutung und Diagnostik der
Schweineleptospirose an Hand einer Literatur-
übersicht sowie eigene Untersuchungen
Vet. med. Diss. Hannover 1970
- Reilly, J.R., Ferris, D.F. u. Hanson, L.E.
Experimental demonstration of the enteric
route of infection with *Leptospira*
grippotyphosa in wild carnivores
Amer. J. Vet. Res. 29, 1849-1854 (1968)
- dies. Experimentally induced predator chain
transmission of *Leptospira* *grippotyphosa*
from rodents to wild marsupialia and
carnivora
Amer. J. Vet. Res. 31, 1443-1448 (1970)
- Reinhard, K.R. Newer knowledge of Leptospirosis in the
United States.
Exper. Parasitol. 2, 87-115 (1953)
- Replow, H. u. Trüb, P.
Ein Verfahren zur Durchführung amtlicher
Ermittlungen über das Vorkommen von
Leptospirosen und seine vorläufigen
Ergebnisse
Arch. Hyg. 137, 105-111 (1953)
- Reuter, G. Erfahrungen mit Nährböden für die selektive
mikrobiologische Analyse von Fleisch-
erzeugnissen
Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53-57 u.
84-89 (1968)

- van Riel, M.I. Recherches sur la Leptospirose du porc en Belgique
Bull. Acad. med. 17, 368 (1952)
zit. nach Mochmann, H. u. Mahnke, P.-F. (1959)
- van Riel, M.I. u. Bienfet, V.
Enquête sur l'existence de la Leptospirose bovine en Belgique
Bull. Acad. Roy. Méd. Belgique 18, 472 (1953)
zit. nach Popp, L. in Kathe, J. u. Mochmann, H. (1967)
- Riemer, R. Persönliche Mitteilung 1976
- Ringen, L.M. u. Okazaki, W.
The susceptibility of several different laboratory animals to infection with *L. pomona*
J. inf. dis. 99, 60-62 (1956)
- Rings, H.
Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern gegen Leptospiren im Blutserum von Schafen aus dem Raume Köln
Vet. med. Diss. Gießen 1957
- Ris, D.R., Lake, D.E. u. Holland, J.T.S.
The isolation of *Leptospira* serotypes *copenhageni* and *ballum* from healthy calves
Nz Vet. J. 21, 218-220 (1973)
- Roberts, C.S. u. Turner, L.W.
The susceptibility of chinchilla (*chinchilla laniger*) to *Leptospira pomona*
J. Amer. Vet. Med. Ass. 132, 527-528 (1958)

- Rodina, V.N. Transmission of leptospirosis by artificial
insemination
Trudy vses. Inst. eksp. Vet. 37, 168-171 (1970)
ref. in Vet. Bull. 41, 536 (1971)
- Wers. Survival of pathogenic leptospires in bull
semen after freezing and thawing, influence
of the type of diluent and the addition
of antibacterial preparations
Trudy Gosudarstvennogo Nauchno-Kontrol'nogo
Instituta veterinarnykh Preparatov
17, 359-363 (1971)
ref. in Vet. Bull. 42, 199 (1972)
- Roemmele, O., Schnaper, G. u. van d. Hall, G.
Ein praktisches Gerät zur dokumentarischen
Feststellung des pH-Wertes, der Durch-
sättigung und des Bluteschlages von Fleisch
und Fleischwaren
Fleischwirtschaft 13, 208-209 (1961)
- Rossi, P. u. Molochine-Grber, P.
Bull. Soc. Sci. vét. Lyon 212 (1954/55)
zit. nach Michna, S.M. (1967)
- Roth, E.E. Linder, D. u. Adams, W.V.
The use of agar plates as an aid for the
isolation of leptospires
Amer. J. Vet. Res. 22, 308-312 (1961)
- Ryu, E. Screening test of animal sera for the
cultivation of leptospires
Canad. J. comp. med. 29, 75-78 (1965)

Sakula, A. u. Moore, W.

Benign Leptospirosis: First reported outbreak in the British isles due to strains belonging to the hebdomadis serogroup of *Leptospira interrogans*
Brit. Med. J. 1969I, 226-228 (1969)

Sander, F.

Zur Frage der Übertragung der Weilschen Krankheit durch Schweine

Arch. Hyg. 113, 279-282 (1935)

Sardjito, M. u. Zuelzer, M.

Weiterer Beitrag zur Biologie der *Leptospira icterohaemorrhagiae* in den Tropen
Zbl. Bakt. I. Orig. 110, 180-187 (1929)

Schällibaum, R. Personaluntersuchungen im Schlachthof

Schweiz. Arch. Tierhk. 109, 269-272 (1967)

Schlossberger, H. u. Kreuz, G.

Über Leptospirenuntersuchungen im Hygienischen Institut der Stadt und Universität Frankfurt/M.

Zschr. Hyg. 140, 433-441 (1954)

Schmidt, A.

Weilsche Krankheit in Schlachthofbetrieben
Mhefte Vet. med. 16, 556-559 (1961)

Schmidt-Lorenz, W.

Bedeutung der Anwesenheit von Mikroorganismen in gefrorenen und tiefgefrorenen Lebensmitteln

Erweitertes Manuskript des Plenarvortrages anlässlich des „International Symposium on Food Microbiology“ im März 1974 in Mailand

Schneiderhan, M.

Beitrag zur Leptospirose der Haustiere

Mhefte Tierhk. 13, 273-281 (1961)

Schnurrenberger, P.R., Tjalma, R.A., Stegmiller, H.E. u.
Wentworth, F.H.

Bovine Leptospirosis - A hazard to man

J. Amer. Vet. Med. Ass. 139, 884-888 (1961)

Schonell, M.E., Brotherston, J.G., Burnett, R.C.S.,
Campbell, J., Coghlan, J.D., Hoffat, M.A.J.
Norval, J. u. Sutherland, J.A.W.

Occupational infections in the Edinburgh
abattoir

Brit. Med. J. 1966II, 148-150 (1966)

Schoop, G.

Die Leptospirosen

Dtsch. tierärztl. Wschr. 58, 256-258 u.
259-269 (1951)

Schröder, H.-D. u. Senf, W.

Fluoreszenzserologischer Nachweis von
Leptospira hyos beim Schwein

Mhefte Vet. med. 22, 771-773 (1967)

Schubert, J.H. u. Culzer, C.R.

Maintenance of Leptospira by storage at -75°C

Hlth. Lab. Sci. 10, 96-101 (1973)

Schulz, J.

Ein Beitrag zur Filtration von bakteriell
verunreinigten Leptospirenstämmen

Mhefte Vet. med. 14, 278-280 (1959)

Sebek, Z. u. Janiček, F.

Über berufsbedingte Leptospirosen in
Böhmen und Mähren

Zbl. Bakt. I. Orig. 195, 101-116 (1964)

Seiler, H.E. u. Norval, J.

Leptospirosis in piggery workers

Nature 177, 1042, (1956)

Shigekawa, J.M. u. Stockton, J.J.

Studies on the preservation of *Leptospira*
icterohaemorrhagiae by freezing

Amer. J. Vet. Res. 16, 619-622 (1955)

Silverie, A., Bonnier, H. u. Lataste-Borolle, C.

Nouvelle enquête sur la Leptospirose à
Madagascar. Contribution à l'étude des
Leptospiroses humaines bovines et porcines
de la région sud.

Ann. soc. path. exot. France 61,
346-359 (1968)

Sleight, S.D. The role of penicillin and Streptomycin in
the prevention of transmission of bovine
Leptospirosis by artificial insemination

Amer. J. Vet. Res. 26, 365-368 (1965)

Sleight, S.D. u. Williams, J.A.

Transmission of bovine Leptospirosis by
coitition and artificial insemination

J. Amer. Vet. Med. Ass. 138, 151-152 (1961)

Sleight, S.D. u. Lundberg, A.M.

Persistence of *Leptospira pomona* in
porcine tissues

J. Amer. Vet. Med. Ass. 139, 455-456 (1961)

Smith, C.F.C. u. Turner, L.H.

The effect of pH on the survival of
Leptospire in water

Bull. World Health Organizat. 24,
35-43 (1965)

Sološenko, I.Z. u. Semenova, L.P.

Zur Höhe des Antikörpertiters bei Lepto-
spirenträgern unter den Tieren

Veterinarija 43, 39-40 (1966)
ref. in Landw. Zbl. IV 12, 1121 (1967)

Stalheim, C.W.V.

Chemotherapy of renal Leptospirosis in
swine

J. Amer. Vet. Res. 28, 161-166 (1967)

ders.

Viable, avirulent Leptospira interrogans
serotype pomona vaccine: Preservation in
liquid nitrogen

Appl. Microbiol. 22, 726-727 (1971)

Stavitsky, A.B. Preservation of *L. icterohaemorrhagiae*
in vitro

J. Bact. 50, 118-119 (1945)

zit. nach Shigekawa, J.E. u. Stockton, J.J.
(1955)

Steele, J.H. Epidemiology of Leptospirosis in the
United States and Canada

J. Amer. Vet. Med. Ass. 136, 247-252 (1960)

Steigner, K.F. Über berufliche Leptospireninfektionen
in Hannover

Arch. Hyg. 140, 160-166 (1956)

- Steigner, K. F. Leptospirose als Berufskrankheit,
Übersichtsreferat
Zbl. Bakt. I. Ref. 162, 431-463 (1957)
- Steinberg, H.J. Serologische Untersuchung von Rindern
auf Leptospirenantikörper. Zugleich ein
Beitrag zur Züchtung von Leptospiren und
zur Reinigung von mit Sekundärkeimen ver-
unreinigten Leptospirenkulturen
Vet. med. Diss. Berlin FU (1954)
- Stevenson, W.J., Hayes, L., Ferris, A.A. u. Wellington, N.A.M.
Observations on Leptospirosis in Victoria
Austral. Med. J. 40, 770 (1953)
zit. nach Steigner, K.F. (1957)
- Stoll, L. Bovine Leptospirosen
Mhefte Vet. med. 8, 519-522 (1953)
- ders. Über Vorkommen von Leptospiren und deren
Antikörper beim Schwein
Mhefte Vet. med. 9, 401-403 (1954)
- Stolle, A. Klinische Bestandsinspektionen sowie
Untersuchungen auf Salmonellose, Lepto-
spirose und Brucellose in Schweinebe-
ständen im Hinblick auf eine vorverlegte
Schlacht tieruntersuchung
Vet. med. Diss. Berlin FU (1974)
- Stolte, H.-C. Untersuchungen über das Vorkommen von
Antikörpern gegen Leptospiren bei
Schweinen in Württemberg
Vet. med. Diss. München 1953

Erinathy, D.N. u. Hanson, L.E.

Agar overlay method for growth of Leptospire in solid medium

Amer. J. Vet. Res. 32, 1125-1127 (1971)

Ohlenhuth u. Fromme

Zur Aethiologie der sog. Weil'schen Krankheit (ansteckende Gelbsucht)

Berliner klin. Wschr. 53, 269-273 (1916)

Vervoort, H. Spirochaeten bij acute koortsige ziekten van onbekenden oorsprong in de tropen. Spirochaetosis febrilis

Gen. Tschr. Ned. Ind. 63, 800 (1923)

zit. nach van Thiel, P.H. (1948)

Veselinov, V., Delčev, C. u. Bajl'ozov, D.

Leptospiren bei Schlachttieren

Naučni trudove na Centralnij naučnoizsledovatel'ski veterinarnochipenen instizut za životinski produkti, Sofia 2, 21-28, (1960)

ref. in Landw. Zbl IV 7, 1743 (1962)

Viskovsky, S.V. A study of two epidemics of jaundice

Klin. Med., Mosc. 22, 3 (1944)

zit. nach Alston, J.H. u. Broom, J.C. (1958)

Vogt, A.

Iridocyclitis und Neuroretinitis acuta duplex durch Weilschen Icterus

Zschr. Augenhk. 39, 252 (1937)

zit. nach Gsell, O. (1952)

Wagner, K.

Übertragung der ansteckenden Gelbsucht (Weilsche Krankheit, Icterogenes Leptospirose) vom Schwein auf den Menschen

Tierärztl. Rdsch. 48, 121-124 (1942)

Walch-Sorgdrager, P.

Leptospirosis

Bull. Health Org. E.O.N. 3, 145 (1939)

zit. nach Alston, J.W. u. Room, J.C. (1958)

Gsell, A.

Über eine eigentümliche, mit Milztumor,
Icterus und Nephritis einhergehende
akute Infektionskrankheit

Dtsch. Arch. Klin. Med. 39, 249 (1886)

zit. nach Gsell, O. (1952)

Leise, B.

Serologische und kulturelle Untersuchungen
zum Vorkommen von Leptospiren bei Schlacht-
tieren im Hinblick auf die Beurteilung der
Leptospirose bei der Fleischuntersuchung

Vet. med. Diss. Berlin FU 1967

ders.

Überlebensfähigkeit von Leptospira ictero-
haemorrhagiae in Nieren geschlachteter
Tiere

V. Symp. orl. Assoc. Vet. Food Hyg.

Opatija 22.-27. Sept. 1969

ders.

Überlebensfähigkeit von Leptospira ictero-
haemorrhagiae in Nieren geschlachteter
Tiere

Fleischwirtschaft 50, 56-58 (1970)

Welcker, A.

Laboratoriumsinfektionen mit Weilscher
Krankheit

Zbl. Bakt. I. Orig. 141, 400-410 (1938)

Wesselinoff, W., Deltscheff, C. u. Bailösoff, D.

Über die Lebensdauer der Leptospiren in
tierischen Geweben

Berliner Münchener tierärztl. Wschr.

75, 184-186 (1962)

Wickerhauser, T.

Diss. Bern 1951
zit. nach Stoll, L. (1953)

Wiesmann, E. Der heutige Stand der Leptospirenforschung
Zschr. Hyg. 130, 80-96 (1949)

ders. Leptospirosen
in Grumbach, A. u. Kikuth, W. (1958)

ders. Die Leptospiren bei Rind, Schaf, Ziege
und Schwein
Schweiz. Arch. Tierhk. 109, 368-391 (1967)

Wiesmann, E. u. Schällibaum, R.
Statistischer Beitrag zur Leptospirose der
Schweine aus der Region Ostschweiz
Schweiz. Arch. Tierhk. 109, 469-470 (1967)

Willinger u. Riccabone
unveröffentlicht
zit. nach N.N. (1967a)

Wirth, D. Tierärztl. Rdsch. 1937, 547 (1937)
zit. nach Mießner, H. u. Dedié, K. (1937)

Wittig, W., Horsch, F., Zimmerhackel, W. und Haase, H.
Leptospira pomona Infektion bei Jungrindern
Mhefte Vet. med. 22, 684-687 (1967)

Wojtek, H.L. Zur Leptospirose der Haus- und Versuchstiere
Tierärztl. Umschau 21, 449-450 u.
453-455 (1966)

Wolff, J.W., Bohlander, H. u. Ruys, A.C.

Researches on Leptospirosis ballum. The detection of urinary carrier in laboratory mice

A. v. Leeuwenhoek J. microb. u. serol
15, 1 (1949)

zit. nach Kathe, J. u. Mochmann, H. (1967)

Wolff, F. u. Krüger, W.

Ein Beitrag zur arbeitsmedizinischen Bedeutung der Schweineleptospirose

Dtsch. Gesd.wes. 25, 460-463 (1970)

Horatz, H.

Ein fester Nährboden für Dauerkulturen pathogener Leptospiren

Zschr. Hyg. 134, 78-80 (1952)

Yanagawa, R., Hiramune, T. u. Akaike, Y.

Growth of saprophytic and pathogenic Leptospirae on solid medium in carbon dioxide free air

J. Bact. 85, 953-954 (1963)

York, C.J.

Aspects of control in bovine Leptospirosis

Proc. U.S. Livestock Sanitary A.

55th Meeting, 1951

zit. nach Dahl, G. (1959)

Zaharija, I.

Weitere in kroatien aus Menschen isolierte Leptospirenstämme

Zschr. Hyg. 143, 604-613 (1957)

Zaharija, I. u. Falisevac, J.

Arhiv za higijenu rada 6, 221 (1955)

zit. nach Zaharija, I. (1957)

Zaharija, I. u. Todorovič, L.

Schwankungen des Titors der Agglutinations-
Lysis-Reaktion beim Pferd und bei der
Zuchtsau nach natürlicher Infektion mit
L. pomona

Veterin. Arh., Zagreb 35, 291-299 (1965)
ref. in Landw. Zbl. IV 12, 1740 (1965)

Zipplies, G.

Zur Züchtung von Leptospiren

Arch. exper. Vet. med. 12, 178-192 (1958)

Zironi, A. u. Carlinfanti, S.

Über die Biologie der Leptospiren, mit
besonderer Berücksichtigung der wach-
stumsregulierenden Faktoren

Zbl. Bakt. I. Orig. 147, 242-249 (1941)

Ziss, E.F.

Die lebensmittelhygienische Beurteilung
des Fleisches bei der Leptospirose der
Rinder

Vet. med. Diss. Moskau 1951

zit. nach Meise, E. (1967)

Zuelzer, M.

Biologie und Epidemiologie der Weilschen
Krankheit mit besonderer Berücksichtigung
von Dänemark

Acta path. microbiol. scand. 12, 512-535
(1935)

Zureck, F.

Die Leptospiren der Haustiere

Tierärztl. Umschau 15, 201-210 (1960)

Zwierzchowski, J.

Verwendung von Hirngewebe für die Diagnose
der Leptospirose

Weterynaria 16, 221-226 (1963)

ref. in Landw. Zbl. IV 10, 80, (1965)

- N. N. Reports on Zoonoses
J. Amer. Vet. Med. Ass. 131, 352 (1957)
- N. N. WHO Expert Group
Current problems in Leptospirosis research
WHO technical report series No. 380
WHO Geneva (1967)
- N. N. Epizootologie et diagnostic de la Leptospirose des bovins, ovins et porcins et lutte contre cette maladie en Autriche
Bull. Off. int. Epiz. 68, 25-26 (1967a)
- N. N. Leptospirosis
Lancet 1972II, 694-695 (1972)

Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. G. Reuter gilt der Dank für die Überlassung des Themas, für seine freundliche Unterstützung und die jederzeit gewährten wertvollen Ratschläge und Hinweise.

Herr Prof. Dr. Obiger und Herr Dr. Schönberg vom Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes in Berlin stellten den Prüfstamm zur Verfügung und gewährten die Einarbeitung im dortigen Leptospirenlaboratorium.

Frl. Hamacher von der Fachrichtung Fleischhygiene des Institutes für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie der Freien Universität Berlin und Frl. Kämpe vom Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes in Berlin gaben technische Hinweise.

Ihnen allen und den Mitarbeitern der Fachrichtung Fleischhygiene sei an dieser Stelle vielmals gedankt.

Lebenslauf

Am 19. August 1949 wurde ich, Detlef Hans Karl Gasse, in Berlin geboren

An der Friedrich-Ebert-Oberschule in Berlin-Wilmersdorf legte ich im Februar 1969 die Reifeprüfung ab.

Zum Sommersemester 1969 erfolgte die Immatrikulation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 20. August 1974.

Seit dem 1. September 1974 bin ich als Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Fachrichtung Fleischhygiene des Institutes für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie der Freien Universität Berlin tätig.

